

**PCT**WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM  
Internationales BüroINTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation <sup>6</sup> : <b>A61K 51/04, 51/08</b>		A2	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: <b>WO 97/10852</b>  (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 27. März 1997 (27.03.97)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE96/01821 (22) Internationales Anmeldedatum: 19. September 1996 (19.09.96)  (30) Prioritätsdaten: 195 36 781.2 21. September 1995 (21.09.95) DE  (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): INSTI- TUT FÜR DIAGNOSTIKFORSCHUNG GMBH AN DER FREIEN UNIVERSITÄT BERLIN [DE/DE]; Spandauer Damm 130, D-14050 Berlin (DE).  (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): DINKELBORG, Ludger [DE/DE]; Emdenstraße 5, D-13585 Berlin (DE). HILGER, Christoph, Stephan [DE/DE]; Ostenderstraße 3a, D-13353 Berlin (DE). KRAMP, Wolfgang [DE/DE]; Damwildsteig 41a, D-13503 Berlin (DE). PLATZEK, Johannes [DE/DE]; Grottkauer Straße 55, D-12621 Berlin (DE). RADÜCHEL, Bernd [DE/DE]; Gollantzstraße 132, D-13465 Berlin (DE). ERBER, Sebastian [DE/DE]; Lindenstraße 82, D-84030 Ergolding (DE).  (74) Anwalt: WABLAT, Wolfgang; Potsdamer Chaussee 48, D- 14129 Berlin (DE).			(81) Bestimmungsstaaten: AU, CA, HU, JP, KR, NO, NZ, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).  Veröffentlicht <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i>
(54) Title: XSNS-TYPE BI-FUNCTIONAL SULPHIDE-CONTAINING SULPHONAMIDE CHELATING AGENTS FOR RADIOAC- TIVE ISOTOPES  (54) Bezeichnung: BIFUNKTIONELLE SULFIDHALTIGE SULFONAMID-CHELATBILDNER VOM TYP XSNS FÜR RADIOAK- TIVE ISOTOPE  (57) Abstract  The invention pertains to novel compounds of the general formula (I): M - L in which M stands for a radioisotope of Tc or Re, L stands for a ligand of the general formula (II): B-CO-(CR <sup>1</sup> R <sup>2</sup> ) <sub>m=1,2</sub> -S-CHR <sup>3</sup> -CHR <sup>4</sup> -SO <sub>2</sub> -NH-CR <sup>5</sup> R <sup>6</sup> -(CR <sup>7</sup> R <sup>8</sup> ) <sub>m=1,2</sub> -SR <sup>9</sup> in which R <sup>1</sup> , R <sup>2</sup> , R <sup>3</sup> , R <sup>4</sup> , R <sup>5</sup> , R <sup>6</sup> , R <sup>7</sup> , R <sup>8</sup> and R <sup>9</sup> can have different meanings, and B stands for another group which is suitable both for the dative bond of metal ions and for coupling with selectively concentrating compounds. That coupling can alternatively be effected on R <sup>8</sup> . These novel compounds serve to form complexes of technetium and rhenium and are used in medical diagnostics and therapy.  (57) Zusammenfassung  Die Erfindung betrifft neue Verbindungen der allgemeinen Formel (I) M - L, worin M für ein Radioisotop von Tc oder Re und L für einen Liganden der allgemeinen Formel (II) B-CO-(CR <sup>1</sup> R <sup>2</sup> ) <sub>m=1,2</sub> -S-CHR <sup>3</sup> -CHR <sup>4</sup> -SO <sub>2</sub> -NH-CR <sup>5</sup> R <sup>6</sup> -(CR <sup>7</sup> R <sup>8</sup> ) <sub>m=1,2</sub> -SR <sup>9</sup> steht, worin R <sup>1</sup> , R <sup>2</sup> , R <sup>3</sup> , R <sup>4</sup> , R <sup>5</sup> , R <sup>6</sup> , R <sup>7</sup> , R <sup>8</sup> , R <sup>9</sup> unterschiedliche Bedeutung haben können und B für eine weitere Gruppe steht, die einerseits für die koordinative Bindung von Metallionen, andererseits für die Kopplung an sich selektiv anreichernde Verbindungen geeignet ist. Die Kopplung an sich selektiv anreichernde Verbindungen kann alternativ auch über R <sup>8</sup> erfolgen. Die neuen Verbindungen dienen zur Komplexbildung von Technetium und Rhenium und werden in der medizinischen Diagnostik und Therapie eingesetzt.			

Durch Anreicherung dieser Mittel wird die therapeutische Strahlung direkt an das pathologische Gewebe herangetragen.

5 Die Anwendung von sowohl diagnostischen als auch  
therapeutischen Radiopharmaka setzt radioaktiv  
markierbare Verbindungen voraus. Im Falle metallischer  
Radionuklide kann das Metall in freier Form als ein Ion  
oder in Form eines Metallkomplexes mit einem oder  
10 mehreren Liganden vorliegen. Beispiele für metallische  
Radionuklide, die Komplexe bilden können, sind  
Technetium-99m und die verschiedenen Rheniumisotope. Das  
erste wird in der Diagnostik und das zweite in der  
Therapie verwendet. Die Radiopharmaka enthalten geeignete  
15 Träger und Zusatzstoffe, die eine Injektion, Inhalation  
oder Ingestion durch den Patienten erlauben, ebenso wie  
physiologische Puffer, Salze etc.

Das für nuklearmedizinische Fragestellungen am häufigsten  
20 verwendete Radionuklid ist Technetium-99m, das sich  
aufgrund seiner günstigen physikalischen Eigenschaften  
(keine Korpuskularstrahlung, 6 h physikalische  
Halbwertszeit, 140 KeV gamma-Strahlung) und der daraus  
resultierenden geringen Strahlenbelastung besonders gut  
25 als Radioisotop für die in vivo-Diagnostik eignet.  
Technetium-99m lässt sich problemlos aus Nuklidgeneratoren  
als Pertechnetat gewinnen und ist in dieser Form direkt  
für die Herstellung von Kits für den klinischen  
Routinebedarf zu verwenden.

30 Die Herstellung von Radiopharmaka erfordert zunächst die  
Synthese eines geeigneten Liganden. Anschließend wird  
separat der Komplex mit dem Radionuklid dargestellt  
(Markierung). Der hergestellte Ligand, stets in Form  
35 eines lyophilisierten Kits wird dazu mit einer das  
Radionuklid enthaltenden Lösung unter

**Bifunktionelle sulfidhaltige Sulfonamid-Chelatbildner  
vom Typ XSNS für radioaktive Isotope**

Die Erfindung betrifft neue, Sulfonamidgruppen  
5 enthaltende Chelatbildner, diese Verbindungen enthaltende  
pharmazeutische Mittel, ihre Verwendung in der  
Radiodiagnostik und Radiotherapie, Verfahren zur  
Herstellung dieser Verbindungen und Mittel, sowie  
10 Konjugate dieser Verbindungen mit sich in erkranktem  
Gewebe selektiv anreichernden Substanzen, insbesondere  
Peptiden.

Die Anwendung von Radiopharmaka für diagnostische und  
therapeutische Zwecke ist seit langem im Bereich der  
15 biologischen und medizinischen Forschung bekannt.  
Insbesondere werden Radiopharmaka dazu benutzt, um  
bestimmte Strukturen wie beispielsweise das Skelett,  
Organe oder Gewebe, darzustellen. Die diagnostische  
Anwendung setzt den Gebrauch solcher radioaktiver Mittel  
20 voraus, die sich nach Applikation spezifisch in solchen  
Strukturen im Patienten anreichern, die untersucht werden  
sollen. Diese sich lokal anreichernden radioaktiven  
Mittel können dann mittels geeigneter Detektoren, wie  
beispielsweise Szintillations-Kameras oder anderer  
25 geeigneter Aufnahmeverfahren, aufgespürt, geplottet oder  
szintigraphiert werden. Die Verteilung und relative  
Intensität des detektierten radioaktiven Mittels  
kennzeichnet den Ort einer Struktur, in dem sich das  
radioaktive Mittel befindet und kann die Anwesenheit von  
30 Anomalien in Struktur und Funktion, pathologische  
Veränderungen etc. darstellen. In ähnlicher Weise können  
Radiopharmaka als therapeutische Mittel angewendet  
werden, um bestimmte krankhafte Gewebe oder Bereiche zu  
bestrahlen. Solche Behandlung erfordert die Herstellung  
35 radioaktiver therapeutischer Mittel, die sich in  
bestimmten Strukturen, Geweben oder Organen anreichern.

Ionenlösungen oder normale Plasma-Ionen wie  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^{+}$ ,  $\text{K}^{+}$  und  $\text{Mg}^{2+}$ .

- 5 Da Technetium in einer Reihe von Oxidationsstufen (+7 bis -1) vorliegen kann, ist es häufig erforderlich, daß radiopharmazeutische Mittel zusätzliche Mittel enthalten, die als Stabilisatoren bekannt sind. Diese halten das Radionuklid in einer stabilen Form, bis es mit dem Liganden reagiert hat. Diese Stabilisatoren können
- 10 Mittel, die als Transfer- oder Hilfsliganden bekannt sind, beinhalten, die besonders nützlich dazu sind, das Metall in einer wohl definierten Oxidationsstufe zu stabilisieren und zu komplexieren, bis der Zielligand über einen Ligandenaustausch das Metall komplexiert.
- 15 Beispiele dieser Art von Hilfsliganden sind (einschließlich deren Salze) Gluconheptonsäure, Weinsäure, Zitronensäure oder andere gebräuchliche Liganden, wie später genauer ausgeführt ist.
- 20 Standardmäßig werden radionuklidhaltige Radiopharmazeutika dargestellt, indem zunächst der Ligand synthetisiert und anschließend mit dem Metall-Radionuklid in geeigneter Weise umgesetzt wird, um einen entsprechenden Komplex zu bilden, in dem notwendigerweise
- 25 der Ligand nach Komplexierung unverändert, mit Ausnahme der Abspaltung eventuell vorhandener Schutzgruppen oder Wasserstoffionen, vorliegen muß. Die Entfernung dieser Gruppen erleichtert die Koordination des Liganden am Metallion und führt so zu einer raschen Komplexierung.
- 30 Zur Bildung von Technetium-99m-Komplexen wird Pertechnetat zunächst aus einem Nuklidgenerator gewonnen und durch Verwendung geeigneter Reduktionsmittel (z.B.  $\text{SnCl}_2$ ,  $\text{S}_2\text{O}_4^{2-}$  etc.) in eine niedrigere Oxidationsstufe
- 35 überführt, die anschließend durch einen geeigneten Chelator stabilisiert wird. Da Technetium in einer Reihe

- Komplexbildungsbedingungen umgesetzt. Ist beispielsweise die Herstellung eines Technetium-99m Radiopharmakons gewünscht, so wird der hergestellte Ligand unter Zusatz eines geeigneten Reduktionsmittels mit einer
- 5     Pertechetat-Lösung versetzt und unter geeigneten Reaktionsbedingungen der entsprechende Technetium-Komplex hergestellt. Diese Komplexe werden dann dem Patienten in geeigneter Weise durch Injektion, Inhalation oder Ingestion verabreicht.
- 10     Die das Radionuklid enthaltenden Lösungen können, wie im Falle von Technetium-99m, aus einem erhältlichen Mo-99/Tc-99m Nuklid-Generator gewonnen werden, oder von einem Hersteller, wie im Falle von Rhenium-186, bezogen
- 15     werden. Die Komplexbildungsreaktion wird unter geeigneten Temperaturen (z.B. 20°-100°C) innerhalb weniger Minuten bis mehreren Stunden durchgeführt. Um eine vollständige Komplexbildung zu gewährleisten, ist ein großer Überschuß (mehr als 100-facher Überschuß zum Metall-Radionuklid)
- 20     des hergestellten Liganden und eine ausreichende Menge an Reduktionsmittel für eine vollständige Reduktion des eingesetzten Radionuklids erforderlich.
- 25     Radiopharmazeutische Mittel werden durch Kombination des Radionuklid-Komplexes, in einer für die diagnostische oder therapeutische Anwendung ausreichenden Menge, mit pharmakologisch akzeptablen radiologischen Trägerstoffen hergestellt. Dieser radiologische Trägerstoff sollte günstige Eigenschaften für die Applikation des
- 30     radiopharmazeutischen Mittels in Form einer Injektion, Inhalation oder Ingestion aufweisen. Beispiele solcher Trägerstoffe sind HSA, wäßrige Pufferlösungen, z.B. Tris-(hydroxymethyl)aminoethane (bzw. deren Salze), Phosphat, Citrat, Bicarbonat usw., steriles Wasser, physiologische
- 35     Kochsalzlösung, isotonische Chlorid- oder Dicarbonat-

Als geeignete Komplexbildner für Technetium und Rheniumisotope gelten z.B. zyklische Amine wie sie von Volkert et al. (Appl. Radiol. Isot. 1982, 33; 891) und Troutner et al. (J. Nucl. Med. 1980, 21; 443) beschrieben werden, die aber den Nachteil haben, daß sie häufig erst ab einem pH-Wert > 9 in der Lage sind, Technetium-99m in guten Ausbeuten zu binden. N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Systeme (Pillai, M.R.A., Troutner, D.E. et al.; Inorg. Chem. 1990, 29; 1850) befinden sich in der klinischen Anwendung. Nichtzyklische N<sub>4</sub>-Systeme wie z.B. das HMPAO haben als großen Nachteil ihre geringe Komplexstabilität. Tc-99m-HMPAO muß wegen seiner Instabilität (Ballinger, J.R. et al., Appl. Radiat. Isot. 1991, 42; 315, Billinghamurst, M.W. et al., Appl. Radiat. Isot. 1991, 42; 607) innerhalb von 30 Minuten nach seiner Markierung appliziert werden, damit der Anteil an Zerfallsprodukten, die eine andere Pharmakokinetik und Ausscheidung besitzen, klein gehalten werden kann. Solche radiochemischen Verunreinigungen erschweren die Erkennung von zu diagnostizierenden Erkrankungen. Eine Kopplung dieser Chelate bzw. Chelatbildner an andere, sich selektiv in Krankheitsherden anreichernde Substanzen ist nicht mit einfachen Mitteln zu lösen, so daß sich diese im allgemeinen unspezifisch im Organismus verteilen.

N<sub>2</sub>S<sub>2</sub>-Chelatoren (Bormans, G. et al.; Nucl. Med. Biol. 1990, 17; 499) wie z.B. Ethylendicystein (EC; Verbruggen, A.M. et al.; J. Nucl. Med. 1992, 33; 551) erfüllen zwar die Forderung nach hinreichender Stabilität des entsprechenden Technetium-99m-Komplexes, bilden aber erst ab einem pH-Wert des Komplexierungsmediums > 9 Radiodiagnostika mit einer Reinheit von größer 69%. N<sub>3</sub>S-Systeme (Fritzburg, A.; EP-0173424 und EP-0250013) bilden zwar stabile Technetium-99m-Komplexe, müssen aber zur Bildung eines einheitlichen Radiopharmakons auf Temperaturen von ca. 100°C erhitzt werden.

von Oxidationsstufen (+7 bis -1) vorliegen kann, die die pharmakologischen Eigenschaften durch Veränderungen der Ladungen eines Komplexes stark verändern können, ist es notwendig, Chelatoren bzw. Komplexliganden für

5 Technetium-99m bereitzustellen, die Technetium sicher, fest und stabil in einer definierten Oxidationsstufe binden können, um zu verhindern, daß durch in vivo ablaufende Redoxprozesse bzw. Technetiumfreisetzungen aus den entsprechenden Radiodiagnostika eine unerwünschte

10 Biodistribution stattfindet, die eine sichere Diagnostik entsprechender Erkrankungen erschwert.

Die Effizienz von Radionukliden in der in vivo Diagnostik, als auch der Therapie hängt von der

15 Spezifität und der Selektivität der markierten Chelate zur Targetzelle ab. Eine Verbesserung dieser Eigenschaften ist durch Kopplung der Chelate an Biomoleküle nach dem "Drug-Targeting"-Prinzip zu erreichen. Als Biomoleküle bieten sich Antikörper, deren

20 Fragmente, Hormone, Wachstumsfaktoren und Substrate von Rezeptoren und Enzymen an. So wird in der britischen Patentanmeldung GB 2,109,407 die Verwendung radioaktiv markierter monoklonaler Antikörper gegen tumorassoziierte Antigene, für die in vivo Tumordiagnostik beschrieben.

25 Ebenso wurden direkte Proteinmarkierungen über Donor-Gruppen (Amino-, Amid-, Thiol-, etc.) des Proteins (Rhodes, B.A. et al., J. Nukl. Med. 1986, 27, 685-693) oder durch Einführen von Komplexbildnern (US-Patent 4,479,930 und Fritzberg, A.R. et al., Nucl. Med. 1986,

30 27, 957) mit Technetium-99m beschrieben. Diese experimentellen Methoden stehen jedoch für die klinische Anwendung nicht zur Verfügung, da zum einen die Selektivität zu niedrig und zum anderen die Backgroundaktivität im Organismus zu hoch ist, um ein in

35 vivo Imaging zu ermöglichen.

Substanzen in ihren Eigenschaften, sowie auch die Mechanismen, nach denen sie angereichert werden, sehr unterschiedlich sind, ist es weiterhin notwendig, den kopplungsfähigen Chelatbildner zu variieren und den  
5 physiologischen Anforderungen des Kopplungspartners hinsichtlich seiner Lipophilie, Membranpermeabilität etc. anpassen zu können.

Der Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, stabile  
10 Komplexverbindungen zur Verfügung zu stellen, die gekoppelt oder fähig zur Kopplung an unterschiedliche sich selektiv anreichernde Verbindungen sind, ohne daß deren Spezifität und Selektivität wesentlich beeinflusst wird. Zusätzlich besteht die Aufgabe, solche koppelbaren  
15 Chelatoren oder Komplexe bereitzustellen, die über eine größere chemische Variationsbreite der Substituenten verfügen, um diese den oben referierten Erfordernissen anpassen zu können. Dabei müssen gleichzeitig die Voraussetzungen für die Anwendung dieser Verbindungen am  
20 Menschen bezüglich aufgenommener Strahlendosis, Stabilität und Löslichkeit der Verbindungen erfüllt sein.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß dadurch gelöst, daß neue, bifunktionelle Sulfonamidgruppen enthaltenden  
25 Chelatbildner und deren Kopplungsprodukte mit sich spezifisch anreichernden Verbindungen zur Verfügung gestellt werden.

Gegenstand der Erfindung sind Verbindungen der  
30 allgemeinen Formel (I)

M - L (I)

worin

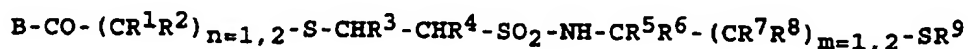
35



In den letzten Jahren ist das Verlangen nach sich spezifisch in erkrankten Geweben anreichernden Radiodiagnostika gestiegen. Dies kann erreicht werden, wenn Komplexbildner leicht an sich selektiv anreichernde Substanzen gekoppelt werden können und dabei ihre günstigen Komplexierungseigenschaften nicht verlieren. Da es aber sehr häufig dazu kommt, daß nach Kopplung eines Komplexbildners unter Nutzung einer seiner funktionellen Gruppen an ein solches Molekül eine Abschwächung der Komplexstabilität beobachtet wird, erscheinen die bisherigen Ansätze zur Kupplung von Chelatbildnern an sich selektiv anreichernde Substanzen wenig zufriedenstellend, da ein diagnostisch nicht tolerierbarer Anteil des Isotops aus dem Konjugat in vivo freigesetzt wird (Brechtel, M.W. et al.; Inorg. chem. 1986, 25, 2772). Es ist deswegen notwendig, bifunktionelle Komplexbildner darzustellen, die sowohl funktionelle Gruppen zur Bindung des gewünschten Metallions als auch eine (andere, mehrere) funktionelle Gruppe zur Bindung des sich selektiv anreichernden Moleküls tragen, oder Komplexbildner derart zu gestalten, daß erst durch Kopplung an eine sich selektiv anreichernde Substanz die gewünschte Komplexbildnerstruktur gebildet wird und somit eine Abschwächung der Komplexstabilität ausgeschlossen wird. Solche Liganden ermöglichen eine spezifische, chemisch definierte Bindung von Technetium- oder Rhenium-Isotopen an verschiedenste biologische Materialien, auch dann, wenn ein sogenanntes Prelabeling durchgeführt wird. Es wurden einige Chelatbildner, gekoppelt an monoklonale Antikörper (z.B. EP-0247866 und EP-0188256) oder Fettsäuren (EP-0200492), beschrieben. Als Chelatbildner werden jedoch die bereits erwähnten  $N_2S_2$ -Systeme verwendet, die aufgrund ihrer geringen Stabilität wenig geeignet sind. Da sowohl die sich selektiv anreichernden

- Carboxy-, Aminocarbonyl-, Alkoxycarbonyl-,  
Amino-, Aldehyd- oder Alkoxygruppen mit bis zu 20  
Kohlenstoffatomen substituiert ist und/oder  
gegebenenfalls durch ein oder mehrere Heteroatome  
5 aus der Reihe O, N, S, P, As, Se unterbrochen  
und/oder substituiert ist,  
darstellt,  
steht,
- 10 R<sup>7</sup> und R<sup>8</sup> gleich oder unterschiedlich sind und jeweils  
für ein Wasserstoffatom und/oder für einen verzweigten  
oder unverzweigten C<sub>1-6</sub>-Alkylrest stehen,
- R<sup>9</sup> für ein Wasserstoffatom, für einen verzweigten oder  
15 unverzweigten C<sub>1-6</sub>-Alkylrest oder für eine  
Schwefelschutzgruppe steht,
- B für einen Rest -SR<sup>11</sup>, -NHR<sup>12</sup> oder -OR<sup>13</sup>,  
worin
- 20 R<sup>11</sup> für ein Wasserstoffatom, für einen verzweigten  
oder unverzweigten C<sub>1-6</sub>-Alkylrest oder für eine  
Schwefelschutzgruppe steht,
- R<sup>12</sup> für ein Wasserstoffatom, eine Aminoschutzgruppe  
25 oder eine verzweigte oder geradkettige, zyklische  
oder polyzyklische C<sub>1-30</sub>-Alkyl-, Alkenyl-,  
Polyalkenyl-, Alkinyl-, Polyalkinyl-, Aryl-,  
Alkylaryl- oder Arylalkylgruppe stehen, die  
gegebenenfalls mit Hydroxy-, Oxy-, Oxo-, Carboxy-,  
30 Aminocarbonyl-, Alkoxycarbonyl-, Amino-, Aldehyd-  
oder Alkoxygruppen mit bis zu 20 Kohlenstoffatomen  
substituiert ist und/oder gegebenenfalls durch ein  
oder mehrere Heteroatome aus der Reihe O, N, S, P,  
As, Se unterbrochen und/oder substituiert ist, steht,
- 35

M ein Radioisotop von Tc oder Re und L einen Liganden der allgemeinen Formel (II)



5

(II)

bedeutet, worin

10  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  und  $R^5$  gleich oder unterschiedlich sind und jeweils für ein Wasserstoffatom und/oder für einen verzweigten oder unverzweigten  $C_{1-6}$ -Alkylrest stehen,

$R^6$  für ein Wasserstoffatom, für einen verzweigten oder unverzweigten  $C_{1-6}$ -Alkylrest oder einen Rest  $-CO-R^{10}$ ,

15

worin

$R^{10}$  eine Hydroxyl-, eine verzweigte oder geradkettige, zyklische oder polyzyklische  $C_{1-30}$ -Alkoxy-, Alkenyloxy-, Polyalkenyloxy-, Alkinyloxy-, Polyalkinyloxy-, Aryloxy-, Alkylaryloxy- oder  
20 Arylalkyloxygruppe, die gegebenenfalls mit Hydroxy-, Oxy-, Oxo-, Carboxy-, Aminocarbonyl-, Alkoxy-carbonyl-, Amino-, Aldehyd- oder Alkoxygruppen mit bis zu 20 Kohlenstoffatomen substituiert ist und/oder gegebenenfalls durch ein oder mehrere  
25 Heteroatome aus der Reihe O, N, S, P, As, Se unterbrochen und/oder substituiert ist oder eine  $N(R^aR^b)$ -Gruppe,

30

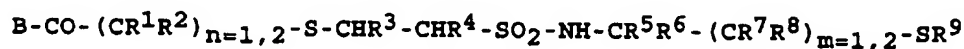
wobei  $R^a$  und  $R^b$  gleich oder verschieden sind und/oder ein Wasserstoffatom, einen verzweigten oder geradkettigen, zyklischen oder polyzyklischen  $C_{1-30}$ -Alkyl-, Alkenyl-, Polyalkenyl-, Alkinyl-, Polyalkinyl-, Aryl-, Alkylaryl- oder Arylalkylrest darstellen, der  
35 gegebenenfalls mit Hydroxy-, Oxy-, Oxo-,

Besonders bevorzugt sind ferner erfindungsgemäße Verbindungen, bei denen  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$  und  $R^8$  Wasserstoffatome darstellen.

- 5 Besonders bevorzugt sind weiterhin erfindungsgemäße Verbindungen, bei denen  $R^1$  und  $R^5$  für Wasserstoffatome stehen.

- Insbesondere bevorzugt sind erfindungsgemäße  
10 Verbindungen, bei denen B für einen Rest  $NHR^{12}$  oder  $OR^{13}$ ,  
worin  
 $R^{12}$  und  $R^{13}$  die voranstehende Bedeutung haben,  
steht

- 15 Ein weiterer Gegenstand der Erfindung betrifft die neuen, bifunktionellen schwefelatom-unterbrochenen Sulfonamid Liganden der allgemeinen Formel (II)



- 20 (II)

worin  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$ ,  $R^6$ ,  $R^7$ ,  $R^8$ ,  $R^9$ , n, m und B jeweils die voranstehend angegebene Bedeutung haben.

- 25 Bevorzugte Verbindungen der allgemeinen Formel (II) zeichnen sich dadurch aus, daß für n und m jeweils 1 steht und daß  $R^1$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$ ,  $R^7$  und  $R^8$  Wasserstoffatome sind.

- 30 Besonders bevorzugte Verbindungen der allgemeinen Formel (II) zeichnen sich dadurch aus, daß für n und m jeweils 1 steht und daß  $R^1$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$ ,  $R^7$ ,  $R^8$  und  $R^9$  Wasserstoffatome sind und  $R^6$  für ein Wasserstoffatom, einen verzweigten oder unverzweigten  $C_{1-6}$ -Alkylrest oder  
35 einen Rest  $-CO-R^{10}$ ,

R<sup>13</sup> ein Wasserstoffatom oder eine Alkoholschutzgruppe bedeutet,  
steht.

- 5 Bevorzugte Verbindungen der allgemeinen Formel (I) zeichnen sich dadurch aus, daß für n und m jeweils 1 steht und daß R<sup>1</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup>, R<sup>7</sup> und R<sup>8</sup> Wasserstoffatome sind.
- 10 Besonders bevorzugte Verbindungen der allgemeinen Formel (I) zeichnen sich dadurch aus, daß für n und m jeweils 1 steht und daß R<sup>1</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup>, R<sup>8</sup> und R<sup>9</sup> Wasserstoffatome sind und R<sup>6</sup> für ein Wasserstoffatom, einen verzweigten oder unverzweigten C<sub>1-6</sub>-Alkylrest oder einen Rest
- 15 -CO-R<sup>10</sup>,  
worin
- 20 R<sup>10</sup> eine Hydroxyl-, eine verzweigte oder geradkettige C<sub>1-30</sub>-Alkoxygruppe oder eine N(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>)-Gruppe, wobei
- R<sup>a</sup> und R<sup>b</sup> gleich oder verschieden sind und/oder ein Wasserstoffatom, einen verzweigten oder geradkettigen, C<sub>1-30</sub>-Alkylrest darstellen, der gegebenenfalls mit Carboxy-, Aminocarbonyl-,
- 25 Alkoxycarbonyl- oder Aminogruppen mit bis zu 20 Kohlenstoffatomen substituiert ist und/oder gegebenenfalls durch ein oder mehrere Heteroatome aus der Reihe O, N, S unterbrochen und/oder substituiert ist,
- 30 darstellen,  
stehen.

Besonders bevorzugt sind erfindungsgemäße Verbindungen, bei denen n und m jeweils für 1 steht.

von Angiotensinen, Angiotensin-Analoga, Angiotensin-Derivate und Angiotensin-Antagonisten sowie chemotaktische Peptide bedeuten.

- 5 In weiteren bevorzugten erfindungsgemäßen Konjugaten weisen die Peptide die folgenden Sequenzen

10 Cys-Ser-Cys-Ser-Ser-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Cys-Val-Tyr-  
Phe-Cys-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

15 Cys-Ser-Cys-Ser-Ser-Trp-Leu-Asp-Lys-Glu-Cys-Val-Tyr-  
Phe-Cys-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

20 Cys-Thr-Cys-Phe-Thr-Tyr-Lys-Asp-Lys-Glu-Cys-Val-Tyr-  
Phe-Cys-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

25 Cys-Ser-Ala-Ser-Ser-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Ala-Val-Tyr-  
Phe-Cys-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

30 Cys-Ser-Cys-Lys-Asp-Met-Thr-Asp-Lys-Glu-Cys-Leu-Asn-  
Phe-Cys-His-Gln-Asp-Val-Ile-Trp,

35 Ala-Ser-Cys-Ser-Ser-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Cys-Val-Tyr-  
Phe-Ala-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

worin

$R^{10}$  eine Hydroxyl-, eine verzweigte oder geradkettige  $C_{1-30}$ -Alkoxygruppe oder eine  $N(R^a R^b)$ -Gruppe,

wobei

- 5  $R^a$  und  $R^b$  gleich oder verschieden sind und/oder ein Wasserstoffatom, einen verzweigten oder geradkettigen,  $C_{1-30}$ -Alkylrest darstellen, der gegebenenfalls mit Carboxy-, Aminocarbonyl-, Alkoxycarbonyl- oder Aminogruppen mit bis zu 20
- 10 Kohlenstoffatomen substituiert ist und/oder gegebenenfalls durch ein oder mehrere Heteroatome aus der Reihe O, N, S unterbrochen und/oder substituiert ist,
- darstellen,
- 15 steht.

- Ein weiterer Gegenstand der Erfindung sind Konjugate enthaltend eine Verbindung der allgemeinen Formel (I und/oder II) und Nukleotiden vom DNA und RNA-Typ sowie
- 20 sich selektiv in erkranktem Gewebe anreichernde Substanzen, wobei zwischen diesen eine konvalente Bindung besteht und diese im Falle von Carboxyl- oder Aminogruppen enthaltenden Substanzen wie natürlich vorkommenden oder modifizierten Oligonukleotiden, bei
- 25 denen der Abbau durch natürlich vorkommende Nukleasen verhindert oder erschwert ist, Peptiden, Proteinen, Antikörpern oder deren Fragmente amidisch oder im Falle von Hydroxylgruppen enthaltenden Substanzen wie Fettalkoholen esterartig oder im Falle von
- 30 Aldehydgruppen enthaltenden Substanzen imidisch vorliegt.

- Besonders bevorzugte Konjugate zeichnen sich dadurch aus, daß die sich im erkrankten Gewebe anreichernden Substanzen Peptide wie Endotheline, Teilsequenzen von
- 35 Endothelinen, Endothelin-Analoga, Endothelin-Derivate, Endothelin-Antagonisten oder Angiotensine, Teilsequenzen

Phe-D-Trp-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe,

5

Val-Tyr-Ile-His-Pro,

oder die cyclischen Aminosäuresequenzen

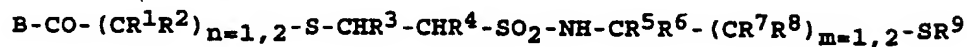
10 Cyclo-(DTrp-DAsp-Pro-DVal-Leu),

Cyclo-(DGLu-Ala-alloDIle-Leu-DTrp) .

auf.

15

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind  
ferner Verbindungen der allgemeinen Formel (II)



20

(II)

worin

25 R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> und R<sup>5</sup> gleich oder unterschiedlich sind  
und jeweils für ein Wasserstoffatom und/oder für einen  
verzweigten oder unverzweigten C<sub>1-6</sub>-Alkylrest stehen,

R<sup>6</sup> für ein Wasserstoffatom, für einen verzweigten oder  
unverzweigten C<sub>1-6</sub>-Alkylrest oder einen Rest -CO-R<sup>10</sup>,

30

worin

R<sup>10</sup> eine Hydroxyl-, eine verzweigte oder  
geradkettige, zyklische oder polyzyklische C<sub>1-30</sub>-  
Alkoxy-, Alkenyloxy-, Polyalkenyloxy-, Alkinyloxy-,  
Polyalkinyloxy-, Aryloxy-, Alkylaryloxy- oder  
35 Arylalkyloxygruppe, die gegebenenfalls mit Hydroxy-,



Ala-Ser-Ala-Ser-Ser-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Ala-Val-Tyr-  
Phe-Ala-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

5 Cys-Ser-Cys-Ser-Ser-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Cys-Val-Tyr-  
Phe-Cys-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Cys-Thr-Cys-Phe-Thr-Tyr-Lys-Asp-Lys-Glu-Ala-Val-Tyr-  
Phe-Ala-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

10    
Cys-Val-Tyr-Phe-Cys-His-Gln-Asp-Val-Ile-Trp,

N-Acetyl-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Ala-Val-Tyr-Phe-Ala-His-Gln-  
Asp-Val-Ile-Trp,

15 Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu,

Ac-Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu,

20 Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe,

Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe,

Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu,

25 Sar-Arg-Val-Tyr-Val-His-Pro-Ala,

For-Met-Leu-Phe,

30 For-Met-Leu-Phe-Lys,

die Teilsequenzen

His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

35 D-Trp-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

- 5 R<sup>12</sup> für ein Wasserstoffatom, eine Aminoschutzgruppe  
oder eine verzweigte oder geradkettige, zyklische  
oder polyzyklische C<sub>1-30</sub>-Alkyl-, Alkenyl-,  
Polyalkenyl, Alkinyl-, Polyalkinyl-, Aryl-,  
Alkylaryl- oder Arylalkylgruppe steht, die  
gegebenenfalls mit Hydroxy-, Oxy-, Oxo-, Carboxy-,  
Aminocarbonyl-, Alkoxycarbonyl-, Amino-, Aldehyd-  
10 oder Alkoxygruppen mit bis zu 20 Kohlenstoffatomen  
substituiert ist und/oder gegebenenfalls durch ein  
oder mehrere Heteroatome aus der Reihe O, N, S, P,  
As, Se unterbrochen und/oder substituiert ist,
- 15 R<sup>13</sup> ein Wasserstoffatom oder eine Alkoholschutzgruppe  
bedeutet,  
steht,
- 20 deren Konjugate mit sich selektiv in erkranktem Gewebe  
anreichernde Substanzen, wobei zwischen diesen eine  
kovalente Bindung besteht und diese im Falle von  
Carboxyl- oder Aminogruppen enthaltenden Substanzen wie  
natürlich vorkommenden oder modifizierten  
Oligonucleotiden, bei denen der Abbau durch natürlich  
vorkommende Nukleasen verhindert oder erschwert ist,  
25 Peptiden, Proteinen, Antikörpern oder deren Fragmente  
amidisch oder im Falle von Hydroxylgruppen enthaltenden  
Substanzen wie Fettalkoholen esterartig oder im Falle von  
Aldehydgruppen enthaltenden Substanzen imidisch vorliegt  
30 sowie deren Komplexe mit Radioisotopen von Tc oder Re.

Die Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen der  
allgemeinen Formel (II) erfolgt dadurch, daß man  
gegebenenfalls mit R<sup>3</sup> und R<sup>4</sup> substituiertes 2-  
35 Chlorethansulfonsäurechlorid in an sich bekannter Weise  
in einem aprotischen Lösungsmittel unter Zusatz einer

Oxy-, Oxo-,  
Carboxy-, Aminocarbonyl-, Alkoxy-carbonyl-,  
Amino-, Aldehyd- oder Alkoxygruppen mit bis zu 20  
Kohlenstoffatomen substituiert ist und/oder  
5 gegebenenfalls durch ein oder mehrere Heteroatome aus  
der Reihe O, N, S, P, As, Se unterbrochen und/oder  
substituiert ist oder eine N(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>)-Gruppe,  
wobei R<sup>a</sup> und R<sup>b</sup> gleich oder verschieden sind  
und/oder ein Wasserstoffatom, einen verzweigten  
10 oder geradkettigen, zyklischen oder  
polyzyklischen C<sub>1-30</sub>-Alkyl-, Alkenyl-,  
Polyalkenyl-, Alkinyl-, Polyalkinyl-, Aryl-,  
Alkylaryl- oder Arylalkylrest darstellen, der  
gegebenenfalls mit Hydroxy-, Oxy-, Oxo-,  
15 Carboxy-, Aminocarbonyl-, Alkoxy-carbonyl-,  
Amino-, Aldehyd- oder Alkoxygruppen mit bis zu 20  
Kohlenstoffatomen substituiert ist und/oder  
gegebenenfalls durch ein oder mehrere Heteroatome  
aus der Reihe O, N, S, P, As, Se unterbrochen  
20 und/oder substituiert ist,  
darstellt,  
steht,  
  
R<sup>7</sup> und R<sup>8</sup> gleich oder unterschiedlich sind und jeweils  
25 für ein Wasserstoffatom und/oder für einen verzweigten  
oder unverzweigten C<sub>1-6</sub>-Alkylrest stehen,  
  
R<sup>9</sup> für ein Wasserstoffatom, für einen verzweigten oder  
unverzweigten C<sub>1-6</sub>-Alkylrest oder für eine  
30 Schwefelschutzgruppe steht,  
  
B für einen Rest -SR<sup>11</sup>, -NHR<sup>12</sup> oder -OR<sup>13</sup>,  
worin  
R<sup>11</sup> für ein Wasserstoffatom, für einen verzweigten  
35 oder unverzweigten C<sub>1-6</sub>-Alkylrest oder für eine  
Schwefelschutzgruppe steht,

worin  $R^1$ ,  $R^2$ , n und B die voranstehend angegebene Bedeutung haben,

5     umsetzt,

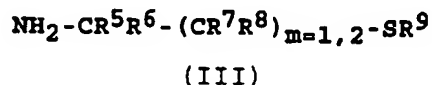
und gegebenenfalls vorhandene Schutzgruppen in an sich bekannter Weise abspaltet.

10    Ein weiterer Gegenstand der Erfindung sind Kits, die zur Herstellung von Radiopharmaka dienen, bestehend aus einer Verbindung der allgemeinen Formel (II) oder einem erfindungsgemäßen Konjugat enthaltend Verbindungen der allgemeinen Formel (I und/oder II) und sich selektiv in  
15    Gewebe anreichernden Substanzen, einem Reduktionsmittel und gegebenenfalls einem Hilfsliganden, die in trockenem Zustand oder in Lösung vorliegen, sowie einer Gebrauchsanweisung mit einer Reaktionsvorschrift zur Umsetzung der beschriebenen Verbindungen mit Technetium-  
20    99m oder Re in Form einer Pertechnetatlösung oder Perrhenatlösung.

Gegenstand der Erfindung ist auch eine radiopharmazeutische Zusammensetzung zur nicht invasiven  
25    in vivo Darstellung von Organen, Rezeptoren und rezeptorhaltigem Gewebe und/oder von atherosklerotischen Plaques, die eine Verbindung der allgemeinen Formel (I) oder ein erfindungsgemäßes Konjugat enthaltend Verbindungen der allgemeinen Formel (I und/oder II) und  
30    sich selektiv in Gewebe anreichernden Substanzen, gegebenenfalls mit den in der Galenik üblichen Zusätzen, enthält, wobei die Verbindung in einem Kit mit Technetium-99m oder Re in Form einer Pertechnetat- oder Perrhenatlösung zubereitet wird.

35

geeigneten Base mit Verbindungen der allgemeinen Formel (III)

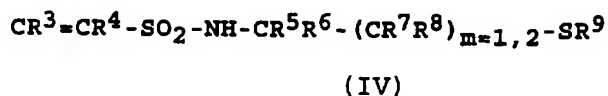


5

worin  $\text{R}^5$ ,  $\text{R}^6$ ,  $\text{R}^7$ ,  $\text{R}^8$ ,  $\text{R}^9$  und  $m$  die in voranstehend angegebene Bedeutung haben,

zu Verbindungen der allgemeinen Formel (IV)

10

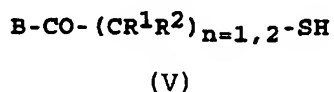


15 worin  $\text{R}^3$ ,  $\text{R}^4$ ,  $\text{R}^5$ ,  $\text{R}^6$ ,  $\text{R}^7$ ,  $\text{R}^8$ ,  $\text{R}^9$  und  $m$  die voranstehend angegebene Bedeutung haben,

umsetzt.

20 Diese Umsetzungen werden in polaren und unpolaren, aprotischen Lösungsmitteln wie beispielsweise Dichlormethan, Tetrahydrofuran, Chloroform, 1,4-Dioxan, Pyridin, DMF oder DMSO bei Temperaturen zwischen  $-40^\circ$  und  $120^\circ\text{C}$  unter Zugabe einer Hilfsbase zum Abfangen der freiwerdenden Säuren durchgeführt. Solche Hilfsbasen  
25 können beispielsweise tertiäre Amine, Alkali- und Erdalkalihydroxide, Alkali- und Erdalkalicarbonate sein.

Die daraus resultierenden Verbindungen der allgemeinen Formel (IV) werden gegebenenfalls unter Zusatz einer  
30 geeigneten Hilfsbase, wie beispielsweise einem tertiären Amin mit Verbindungen der allgemeinen Formel (V)



beeinflussen häufig die Markierungsausbeute und radiochemische Reinheit und somit auch den Background durch unspezifisch gebundenes Technetium nachteilig. Die Etablierung von Schwefelschutzgruppen bzw. deren Abspaltung erfolgt nach Methoden, die dem Fachmann bekannt sind. Die Kopplung an sich selektiv in erkrankten Geweben anreichernden Substanzen erfolgt ebenfalls nach an sich dem Fachmann bekannten Methoden (z.B. Fritzberg et al.; J.Nucl.Med. 26, 7 (1987)), beispielsweise durch Umsetzung von elektrophilen Gruppen des Komplexliganden mit nukleophilen Zentren der sich selektiv in erkrankten Geweben anreichernden Substanzen oder durch Reaktion nukleophiler Gruppen des Chelators mit elektrophilen Gruppen der sich selektiv in erkrankten Geweben anreichernden Substanzen.

Als Kopplungspartner werden u.a. verschiedene Biomoleküle verwendet. So z.B. Liganden, die an spezifische Rezeptoren binden und so Veränderungen der Rezeptordichte erkennen lassen, hierzu gehören u.a. Peptide, Steroidhormone, Wachstumsfaktoren und Neurotransmitter. Kopplungsprodukte mit steroidhormon-rezeptoraffinen Substanzen ermöglichen eine verbesserte Diagnostik von Mamma- und Prostatacarzinomen (S.J. Brandes und J.A. Katzenellenbogen, Nucl.Med.Biol. 15, 53, 1988). Verschiedentlich weisen Tumorzellen eine veränderte Dichte von Rezeptoren für Peptidhormone oder Wachstumsfaktoren auf, wie z.B. den "epidermal growth factor" (EgF). Die Konzentrationsunterschiede lassen sich zur selektiven Anreicherung von Cytostatika in Tumorzellen nutzen (E.Aboud-Pirak et al.; Proc.Natl.Acad.Sci. USA 86: 3778 1989). Weitere Biomoleküle sind in den Metabolismus der Zellen einschleusbare Metabolite, die einen veränderten Stoffwechsel anzeigen; hierzu gehören z.B. Fettsäuren, Saccharide, Peptide und Aminosäuren. Fettsäuren gekoppelt

In einer Methode zur Durchführung einer radiodiagnostischen Untersuchung wird die radiopharmazeutische Zusammensetzung in einer Menge von 0,1 bis 30 mCi, bevorzugt von 0,5 bis 10 mCi pro 70 kg Körpergewicht einem Patienten verabreicht und die vom Patienten abgegebene Strahlung aufgezeichnet.

Überraschenderweise zeigen viele der synthetisierten und mit Technetium-99m oder Re markierten Chelate eine höhere Stabilität als vergleichbare  $N_2S_2$ - und  $N_3S$ -Systeme, die in der Literatur beschrieben sind. So konnten z.B. bei einer erfindungsgemäßen Substanz (Beispiel 2), die an eine Endothelin-Teilsequenz gekoppelt wurde, keine Zersetzungsprodukte nach 24 h beobachtet werden. Auch konnte durch Wettbewerbsversuche festgestellt werden, daß die in dieser Erfindung beschriebenen Tc-99m oder Re-Chelatoren besser als die vergleichbaren  $N_2S_2$ ,  $N_3S$  und Propylenaminnoxim-Systeme komplexieren. Die in der vorliegenden Erfindung beschriebenen Chelate und Chelatbildner sind damit eindeutig besser für diagnostische und therapeutische Zwecke geeignet als die bisher bekannten Systeme. Ein besonderer Vorteil liegt in den milden Markierungsbedingungen. So gelingt nach Abspaltung der Schutzgruppen die Markierung der erfindungsgemäßen Liganden sowie deren Kopplungsprodukten an sich selektiv in erkrankten Geweben anreichernden Substanzen bei Raumtemperatur und bei physiologischem pH-Wert. Durch Wahl geeigneter Schutzgruppen, die sich je nach Kopplungsprodukt mit unterschiedlichen Reaktionsbedingungen abspalten lassen, ist stets gewährleistet, daß unerwünschte Nebenreaktionen bei der Aufreinigung der Kopplungsprodukte nicht auftreten können. Dies bietet die Gewähr, daß keine unerwünschten Vernetzungsreaktionen oder Oxidationen freier Sulfhydrylgruppen zu Disulfiden unter Reinigungsbedingungen auftreten. Solche Veränderungen

Es ist unerheblich, ob eine Markierung der beschriebenen Chelatbildner mit Technetium-99m vor oder nach der Kopplung an das sich selektiv anreichernde Molekül durchgeführt wird. Für eine Kopplung an das sich selektiv anreichernde Molekül nach einer Komplexierung ist jedoch Voraussetzung, daß die Umsetzung des radioaktiven Komplexes mit der sich anreichernden Verbindung schnell, unter milden Bedingungen und nahezu quantitativ abläuft, so daß eine anschließende Aufreinigung nicht erforderlich ist.

Die Herstellung der erfindungsgemäßen pharmazeutischen Mittel erfolgt in an sich bekannter Weise, in dem man die erfindungsgemäßen Komplexbildner unter Zusatz eines Reduktionsmittels, vorzugsweise Zinn-(II)-Salzen wie -chlorid, -pyrophosphat oder -tartrat - und gegebenenfalls unter Zugabe der in der Galenik üblichen Zusätze - in wäßrigem Medium löst und anschließend sterilfiltriert. Geeignete Zusätze sind beispielsweise physiologisch unbedenkliche Puffer (z.B. Tromethamin), geringe Zusätze von Elektrolyten (z.B. Natriumchlorid), Stabilisatoren (z.B. Gluconat, Phosphate oder Phosphonate). Das erfindungsgemäße pharmazeutische Mittel liegt in Form einer Lösung oder in lyophilisierter Form vor und wird kurz vor der Applikation mit einer Lösung Tc-99m-Pertechnetat, eluiert aus kommerziell erhältlichen Mo/Tc-Generatoren, oder einer Perrhenatlösung versetzt.

Bei der nuklearmedizinischen in vivo Anwendung werden die erfindungsgemäßen pharmazeutischen Mittel in Mengen von  $1 \times 10^{-5}$  bis  $5 \times 10^4$  nmol/kg Körpergewicht, vorzugsweise in Mengen zwischen  $1 \times 10^{-3}$  bis  $5 \times 10^2$  nmol/kg Körpergewicht dosiert. Ausgehend von einem mittleren Körpergewicht von 70 kg beträgt die Radioaktivitätsmenge für diagnostische Anwendungen zwischen 0,05 bis 50 mCi, vorzugsweise 5 bis



an die weniger stabilen  $N_2S_2$ -Systeme wurden in der EP-0200492 beschrieben. Andere Stoffwechselprodukte wie Saccharide, Desoxyglucose, Lactat und Aminosäuren (Leucin, Methylmethionin, Glycin) wurden mit Hilfe der

5 PET-Technik zur bildlichen Darstellung veränderter Stoffwechselvorgänge verwendet (R. Weinreich, Swiss Med. 8, 10, 1986). Auch nicht biologische Substanzen wie Misonidazol und seine Derivate, die sich in Geweben bzw. Gewebeteilen mit reduzierter Sauerstoffkonzentration

10 irreversibel an Zellbestandteile binden, können zur spezifischen Anreicherung von radioaktiven Isotopen und somit zur bildlichen Darstellung von Tumoren oder ischämischen Regionen herangezogen werden (M.E. Shelton, J.Nucl.Med. 30, 351, 1989). Schließlich ist auch die

15 Kopplung der neuen Chelatbildner an monoklonale Antikörper bzw. deren Fragmente, Polysaccharide wie Dextrane oder Stärken, Bleomycine, Hormone, Enzyme, Polypeptide wie Polylysin und Nukleotide vom DNA- oder RNA-Typ möglich. Besonders günstig erwiesen sich

20 Kopplungsprodukte der erfindungsgemäßen Chelate bzw. deren Komplexe mit Technetium-99m oder Re mit Endothelinen, Endothelinderivaten oder mit Teilsequenzen der Endotheline bzw. deren Derivate zur Detektion von atherosklerotischen Gefäßerkrankungen. Diese Derivate

25 wurden WHHL-Kaninchen appliziert, die durch einen genetischen Defekt des LDL-Rezeptors hohe LDL-Konzentrationen im Blut aufweisen und somit atherosklerotischen Läsionen aufweisen. Etwa 1 bis 6 h nach Applikation der Derivate in WHHL-Kaninchen konnte

30 eine hohe Anreicherung in atherosklerotischen Plaques nachgewiesen werden. Bisher konnten nur sehr späte Stadien der Atherogenese mit invasiven Verfahren diagnostiziert werden. Die erfindungsgemäßen Verbindungen bieten daher den entscheidenden Vorteil, viel frühere

35 Stadien der Atherosklerose mit einem nicht invasiven Verfahren zu diagnostizieren.

(Kieselgel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). Es verbleiben 2,37 g eines langsam kristallisierenden Öls.

Ausbeute: 66%

Analyse:

5	Ber.:	C 50,12	H 5,89	N 3,80	O 22,26	S 17,84
	Gef.:	C 49,97	H 6,01	N 3,62		S 17,56

N-{4-[(N-Methyl)carbamoyl]-3-thiabutylsulfonyl}-S-(4-methoxybenzyl)-cysteinethylester (3)

- 10 Eine Lösung von 3,59 g der Vinylsulfonsäure 2 (10 mmol) und 2 g Triethylamin in 25 ml Dichlormethan wird auf 0°C abgekühlt. Anschließend werden 1,05 g N-Methylmercaptoacetamid in wenig Dichlormethan zugegeben und bei RT 24 Stunden gerührt. Anschließend wird mit 25 ml Dichlormethan verdünnt, mit verdünnter HCl und Wasser gewaschen, 15 getrocknet und eingeeengt.

Ausbeute: 66%

Analyse:

	Ber.:	C 46,53	H 6,07	N 6,03	O 20,66	S 20,71
20	Gef.:	C 46,42	H 6,18	N 6,09		S 21,03

N-{4-[(N-Methyl)carbamoyl]-3-thiabutylsulfonyl}-cysteinethylester (4)

- 25 Zu 2,32 g 3 (5 mmol) und einem Tropfen Anisol wird bei 0°C unter Feuchtigkeitsausschluß 10 ml HF in einen 100 ml Teflon-Rundkolben einkondensiert. Es wird 30 min bei 0°C gerührt und anschließend Fluorwasserstoff vorsichtig abdestilliert. Der Rückstand wird in Dichlormethan aufgenommen, mit Natriumbicarbonatlösung und Wasser 30 gewaschen, getrocknet und eingeeengt. Der ölige Rückstand wird durch Verreiben mit Diethylether kristallisiert.

Ausbeute: 64%

Analyse:

	Ber.:	C 34,87	H 5,85	N 8,13	O 23,22	S 27,93
35	Gef.:	C 34,55	H 5,91	N 8,42		S 27,37

30 mCi pro 70 kg Applikation. Für therapeutische Anwendungen werden zwischen 5 und 500 mCi, vorzugsweise 10 bis 350 mCi appliziert. Die Applikation erfolgt normalerweise durch intravenöse, intraarterielle, peritoneale oder intertumorale Injektion von 0,1 bis 2 ml einer Lösung der erfindungsgemäßen Mittel. Bevorzugt ist die intravenöse Applikation.

Die nachfolgenden Beispiele dienen der näheren Erläuterung des Erfindungsgegenstandes.

#### Beispiel 1

##### S-(4-Methoxybenzyl)cysteinethylester (1)

In eine Lösung von 27,7 g S-4-Methoxybenzylcystein in 250 ml absolutem EtOH wird HCl bis zur Sättigung eingeleitet und zum Sieden erhitzt. Nach vollständiger Umsetzung wird nach Abkühlung auf Raumtemperatur filtriert und die Mutterlauge erneut eingeeengt. Es verbleiben 28,4 g weiße Kristalle.

Ausbeute: 93%

Analyse:

Ber.:	C 51,06	H 6,59	N 4,58	O 15,70	S 10,49
Geg.:	C 50,88	H 6,83	N 4,45		S 10,15

##### N-Vinylsulfonyl-S-(4-methoxybenzyl)-cysteinethylester (2)

Eine eisgekühlte Lösung von 3,06 g (10 mmol) des S-geschützten Cysteinderivats 1 und 1,79 g Chlorethansulfonylchlorid (11 mmol) in 10 ml Dichlormethan wird langsam unter Eiskühlung mit trockenem Pyridin (44 mmol) versetzt. Man läßt auf RT erwärmen und nach beendeter Reaktion wird mit 20 ml verd. HCl versetzt und die Dichlormethan-Phase abgetrennt. Die wäßrige Phase wird mehrmals mit Dichlormethan extrahiert, mit Wasser gewaschen, getrocknet, eingeeengt und chromatographiert

(HOOC-Trp-Ile-Ile-Asp-D-Trp-Phe-Gly)-5-carbamoyl-4-methyl-3-thiabutylsulfonyl-S-(4-methoxy-benzyl)-cysteinethylester (6)

5 Zu einer Lösung von 523 mg des Cysteinderivats 5 (1 mmol), 101 mg Triethylamin und 115 mg N-Hydroxysuccinimid (1 mmol) in 10 ml wasserfreiem Dimethylformamid werden unter Rühren bei -10°C 211 mg EDC (1,1 mol) in 2 ml wasserfreiem Dimethylformamid zugetropft und 2 Stunden bei 0°C gerührt. Anschließend wird eine Lösung von 967 mg 10 Phe-D-Trp-Asp-Ile-Ile-Trp (1,1 mmol) in DMF innerhalb von 30 Minuten zugetropft. Es wird zunächst weitere 2 Stunden bei 0°C gerührt und 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wird im Vakuum eingedampft und in Dichlormethan aufgenommen. Nach erneuter Filtration 15 wird 2x mit 0,5 N HCl und gesättigter Natriumhydrogen-carbonat-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abgezogen. Der Rückstand wird durch Verreiben mit Diethylether kristallisiert. Ausbeute: 29%

20 Analyse:

Ber.:	C 58,16	H 6,27	N 10,12	O 18,50	S 6,95
Gef.:	C 57,78	H 6,42	N 10,03		S 7,06

N-[(HOOC-Trp-Ile-Ile-Asp-D-Trp-Phe-Gly)-carbamoyl-4-methyl-3-thiabutylsulfonyl]-cysteinethylester (7)

25 Zu 1,38 g 6 (1 mmol) und einem Tropfen Anisol wird bei 0°C unter Feuchtigkeitsausschluß 10 ml HF in einen 100 ml Teflon-Rundkolben einkondensiert. Es wird 30 min bei 0°C gerührt und anschließend Fluorwasserstoff vorsichtig 30 abdestilliert. Der Rückstand wird durch Verreiben mit Diethylether kristallisiert. Ausbeute: 39%

Analyse:

Ber.:	C 56,09	H 6,22	N 11,09	O 18,99	S 7,61
35 Gef.:	C 56,19	H 6,46	N 11,16		S 7,95

N-{4-[(N-Methyl)carbamoyl]-3-thiabutylsulfonyl}-  
cysteinethylester. Technetium-99m-Komplex

- 10 mg der Verbindung 4 werden in 1,0 ml Ethanol gelöst.  
50 µl dieser Ligand-Lösung werden mit 100 µl Ethanol,  
5 150 µl Phosphatpuffer pH 8,5, 50 µl einer desoxygenierten  
wäßrigen Citratlösung (50 mg/ml), 2,5 µl einer  
desoxygenierten Zinn(II)-chlorid-Lösung (5 mg/ml 0,1 N  
HCl) und 100 µl einer Pertechnetat-Lösung (400- 1000 µCi)  
versetzt. Das Reaktionsgemisch wird nach einer  
10 Inkubationszeit von 10 min mittels HPLC auf die Reinheit  
des gebildeten Tc-Komplexes untersucht: LiChrospher RP-18  
Säule, 5 µ, 125 x 4,6 mm; Gradientenelution von 100% A  
nach 100% B innerhalb von 15 min (Eluent A:  
Acetonitril/Na-phosphat 5 mM, pH 2,0 (10/90); Eluent B:  
15 Acetonitril/Na-phosphat 5 mM, pH 2,0 (75/25);  
1 ml/min. Die radiochemische Reinheit ist > 98%.

**Beispiel 2**

- 20  
N-{4-[(N-Glycyl)carbamoyl]-4-methyl-3-thiabutylsulfonyl}-  
S-(4-methoxy-benzyl)-cysteinethylester (5)  
Eine Lösung von 3,59 g der Vinylsulfonsäure 2 (10 mmol)  
und 2 g Triethylamin in 25 ml THF wird auf 0°C abgekühlt.  
25 Anschließend werden 1,63 g Mercaptopropionylglycin  
(10 mmol) in wenig THF zugegeben und 24 Stunden bei RT  
gerührt. Anschließend wird das Lösungsmittel abgezogen,  
der Rückstand in 50 ml Dichlormethan aufgenommen, die  
organische Phase mit verdünnter HCl und Wasser gewaschen,  
30 getrocknet und eingeengt und chromatographiert  
(Kieselgel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).  
Ausbeute: 56%  
Analyse:  
Ber.: C 45,96 H 5,79 N 5,36 O 24,49 S 18,41  
35 Gef.: C 45,61 H 5,90 N 5,44 S 18,07

## Analyse:

Ber.:	C 58,31	H 6,36	N 3,40	O 15,54	S 7,78
Gef.:	C 57,89	H 6,66	N 3,21		S 7,47

5 N-Vinylsulfonyl-S-bis-(4-methoxyphenyl)methyl-  
cysteinethylester (9)

Eine eisgekühlte Lösung von 4,12 g (10 mmol) des S-geschützten Cysteinderivats 8 und 1,79 g Chlorethansulfonylchlorid (11 mmol) in 10 ml Dichlormethan wird  
 10 langsam unter Eiskühlung mit trockenem Pyridin (44 mmol) versetzt. Man läßt auf RT erwärmen und nach beendeter Reaktion wird mit 20 ml verd. HCl versetzt und die Dichlormethan-Phase abgetrennt. Die wäßrige Phase wird  
 15 mehrmals mit Dichlormethan extrahiert, mit Wasser gewaschen, getrocknet, eingeeengt und chromatographiert (Kieselgel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

Ausbeute: 66%

## Analyse:

Ber.:	C 56,76	H 5,85	N 3,01	O 20,62	S 13,78
20 Gef.:	C 56,81	H 5,70	N 2,89		S 14,02

N-{4-[(N-Glycyl)carbamoyl]-4-methyl-3-thiabutylsulfonyl}-  
S-bis(4-methoxyphenyl)-methyl-cysteinethylester (10)

Eine Lösung von 4,66 g der Vinylsulfonsäure 9 (10 mmol)  
 25 und 2 g Triethylamin in 25 ml Dichlormethan wird auf 0°C abgekühlt. Anschließend werden 1,63 g Mercaptopropionylglycin zugegeben und 24 Stunden bei RT gerührt.  
 Anschließend wird mit 25 ml Dichlormethan verdünnt, mit verdünnter HCl und Wasser gewaschen, getrocknet,  
 30 eingeeengt und chromatographiert (Kieselgel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH).

Ausbeute: 45%

## Analyse:

Ber.:	C 51,58	H 5,77	N 4,46	O 22,90	S 15,30
Gef.:	C 51,11	H 6,05	N 4,49		S 14,98

N-[(HOOC-Trp-Ile-Ile-Asp-D-Trp-Phe-Gly)-carbamoyl-4-methyl-3-thiabutylsulfonyl]-cysteinethylester

Technetium-99m-Komplex

- 10 mg der Verbindung 7 werden in 1,0 ml Ethanol gelöst.  
5 50 µl dieser Ligand-Lösung werden mit 250 µl Phosphatpuffer pH 8,5, 50 µl einer desoxygenierten wäßrigen Citratlösung (50 mg/ml), 2,5 µl einer desoxygenierten Zinn(II)-chlorid-Lösung (5 mg/ml 0,1 N HCl) und 100 µl einer Pertechetat-Lösung (400- 1000 µCi) versetzt. Das  
10 Reaktionsgemisch wird nach einer Inkubationszeit von 10 min mittels HPLC auf die Reinheit des gebildeten Tc-Komplexes untersucht: LiChrospher RP-18 Säule, 5 µ, 125 x 4,6 mm; Gradientenelution von 100% A nach 100% B innerhalb von 15 min (Eluent A: Acetonitril/Na-phosphat 5  
15 mM, pH 2,0 (10/90); Eluent B: Acetonitril/Na-phosphat 5 mM, pH 2,0 (75/25); 1 ml/min. Die radiochemische Reinheit ist > 96%.

20 **Beispiel 3**

S-Bis-(4-methoxyphenyl)-methylecysteinethylester (8)

- 1,86 g wasserfreies Cysteinethylester-Hydrochlorid (10 mmol) werden in 10 ml Eisessig suspendiert und dazu etwa  
25 2,76 g des S-Bis-(4-Methoxyphenyl)-methanol (15 mmol) sowie 2,1 ml BF<sub>3</sub>-Diethyletherat (15 mmol) zugegeben. Es wird 2 h bei RT gerührt, wobei sich nahezu alles klar löst. Anschließend wird am Rotationsverdampfer bei 40°C Badtemperatur eingeengt. Der ölige Rückstand wird in  
30 Essigester gelöst. Durch Schütteln mit gesättigter Natriumacetat-Lösung fällt das geschützte Cysteinderivat aus, das abgesaugt und mit Wasser und Aceton gut gewaschen wird.

Ausbeute: 79%

**Beispiel 4**N-{4-Carboxy-3-thiabutylsulfonyl}-S-bis(4-methoxyphenyl)-methyl-cysteinethylester (12)

- 5 Zu einer gerührten Lösung von 920 mg Mercaptoessigsäure (10 mmol) und 1,5 g Triton B-Lösung werden unter Kühlung 5,6 mg der Vinylsulfonsäure 2 (1,2 mmol) zugegeben und 20h bei RT gerührt. Anschließend wird mit 1 N HCL angesäuert und mit Ethylacetat extrahiert. Die
- 10 vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, getrocknet und eingeeengt. Der verbleibende Rückstand wird aus MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> umkristallisiert.

Ausbeute: 61%

15 Analyse:

Bef.:	C 51,69	H 5,60	N 2,51	O 22,95	S 17,25
Gef.:	C 51,28	H 5,90	N 2,27		S 17,86

N-{4-Carboxy-3-thiabutylsulfonyl}-cysteinethylester (13)

- 20 Zu 10 ml Trifluoressigsäure werden bei RT 558 mg der geschützten S-Verbindung 12 (1 mmol) und eine Spur Anisol gegeben und 2 Stunden bei 50°C gerührt. Nach beendeter Reaktion wird die Trifluoressigsäure im Vakuum abgezogen, der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen, mit gesättigter
- 25 Kochsalzlösung gewaschen, getrocknet und eingeeengt. Der ölige Rückstand wird durch Verreiben mit Diethylether kristallisiert.

Ausbeute: 59%

Analyse:

30 Ber.:	C 32,62	H 5,17	N 4,23	O 28,97	S 29,03
Gef.:	C 32,75	H 5,28	N 4,45		S 29,67

N-{4-Carboxy-3-thiabutylsulfonyl}-cysteinethylester.  
Technetium-99m-Komplex

- 35 10 mg der Verbindung 13 werden in 1,0 ml Ethanol gelöst. 50 µl dieser Ligand-Lösung werden mit 100 µl Ethanol,



N-{4-[(N-Glycyl)carbamoyl]-4-methyl-3-thiabutylsulfonyl}-  
S-cysteinethylester (11)

5 Zu 10 ml Trifluoressigsäure werden bei RT 628 mg der  
geschützten S-Verbindung 10 (1 mmol) und eine Spur Anisol  
gegeben und 2 Stunden bei 50°C gerührt. Nach beendeter  
Reaktion wird die Trifluoressigsäure im Vakuum abgezogen,  
der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen, mit gesättigter  
Kochsalzlösung gewaschen, getrocknet und eingeeengt. Der  
ölige Rückstand wird durch Verreiben mit Diethylether  
10 kristallisiert.

Ausbeute: 34%

Analyse:

Ber.: C 35,81 H 5,51 N 6,96 O 27,83 S 23,90

Gef.: C 35,32 H 5,84 N 6,63 S 23,95

15

N-{4-[(N-Glycyl)carbamoyl]-4-methyl-3-thiabutylsulfonyl}-  
S-cysteinethylester, Technetium-99m-Komplex

10 mg der Verbindung 11 werden in 1,0 ml Ethanol gelöst.  
50 µl dieser Ligand-Lösung werden mit 100 µl Ethanol,  
20 150 µl Phosphatpuffer pH 8,5, 50 µl einer desoxygenierten  
wäßrigen Citratlösung (50 mg/ml), 2,5 µl einer  
desoxygenierten Zinn(II)-chlorid-Lösung (5 mg/ml 0,1 N  
HCl) und 100 µl einer Pertechetat-Lösung (400- 1000 µCi)  
versetzt. Das Reaktionsgemisch wird nach einer  
25 Inkubationszeit von 10 min mittels HPLC auf die Reinheit  
des gebildeten Tc-Komplexes untersucht: LiChrospher RP-18  
Säule, 5 µ, 125 x 4,6 mm; Gradientenelution von 100% A  
nach 100% B innerhalb von 15 min (Eluent A:  
Acetonitril/Na-phosphat 5 mM, pH 2,0 (10/90); Eluent B:  
30 Acetonitril/Na-phosphat 5 mM, pH 2,0 (75/25); 1ml/min.  
Die radiochemische Reinheit ist > 95%.

unter Rühren bei -10°C 211 mg EDC (1,1 mmol) in 5 ml wasserfreiem Dimethylformamid zugetropft und 2 Stunden bei 0°C gerührt. Anschließend wird eine Lösung von 572 mg des Cysteinderivats 14 (1 mmol) in DMF innerhalb von 30 Minuten zugetropft. Es wird zunächst weitere 2 Stunden bei 0°C gerührt und 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Produkt wird vom N,N'-Dicyclohexylharnstoff abfiltriert und das Filtrat im Vakuum eingedampft und in Dichlormethan aufgenommen. Nach erneuter Filtration wird 2x mit 0,5 N HCl und gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abgezogen. Der Rückstand wird durch Verreiben mit Diethylether kristallisiert.

Ausbeute: 39%

Analyse:

Ber.:	C 54,53	H 6,30	N 8,48	O 17,76	S 12,94
Gef.:	C 54,21	H 6,49	N 8,53		S 12,75

For-Met-Leu-Phe-({N-[N'-(5-amino-3-thiapentylsulfonyl)-cysteinyl]-2-aminoethyl}amid) (16)

991 mg des Peptids 15 (1 mmol) wird 45 Minuten bei 0°C mit 10 ml wasserfreiem HF in Gegenwart von 5 ml Anisol und 3,5 ml Diethylsulfid behandelt. Nach Abdampfen der Säure wird der verbleibende Rückstand in 5% Essigsäure aufgenommen, mehrmals mit Diethylether gewaschen und lyophilisiert. Chromatographische Reinigung über Sephadex G-10 mit 0,2 M Essigsäure ergibt ein Öl.

Ausbeute: 29%

Analyse:

Ber.:	C 47,10	H 6,32	N 10,99	O 18,82	S 16,77
Gef.:	C 46,81	H 6,57	N 11,25		S 16,81

For-Met-Leu-Phe-({N-[N'-(5-amino-3-thiapentylsulfonyl)-cysteinyl]-2-aminoethyl}amid). Technetium-99m-Komplex

10 mg der Verbindung 16 werden in 1,0 ml Ethanol gelöst. 50 µl dieser Ligand-Lösung werden mit 100 µl Ethanol,

150 µl Phosphatpuffer pH 8,5, 50 µl einer desoxygenierten wäßrigen Citratlösung (50 mg/ml), 2,5 µl einer desoxygenierten Zinn(II)-chlorid-Lösung (5 mg/ml 0,1 N HCl) und 100 µl einer Pertechneat-Lösung (400- 1000 µCi) versetzt. Das Reaktionsgemisch wird nach einer Inkubationszeit von 10 min mittels HPLC auf die Reinheit des gebildeten Tc-Komplexes untersucht: LiChrospher RP-18 Säule, 5 µ, 125 x 4,6 mm; Gradientenelution von 100% A nach 100% B innerhalb von 15 min (Eluent A: Acetonitril/Na-phosphat 5 mM, pH 2,0 (10/90); Eluent B: Acetonitril/Na-phosphat 5 mM, pH 2,0 (75/25); 1 ml/min. Die radiochemische Reinheit ist > 97%.

#### 15 Beispiel 5

##### N-(4-Carboxy-3-thiabutylsulfonyl)-S-bis(4-methoxyphenyl)-methyl-cystein-[N-(2-aminoethyl)amid] (14)

Zu einer Lösung von 25 g Ethylendiamin (240 mmol) wird langsam eine Lösung von 5,58 g des Cysteinesters 12 (10 mmol) in 50 ml Toluol/Dioxan bei 95°C zugetropft und 2 Stunden unter Rückfluß gekocht. Nach Abkühlung auf Raumtemperatur wird im Vakuum überschüssiges Ethylendiamin abdestilliert und der Rückstand aus Methanol/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> umkristallisiert.

Ausbeute: 80%

Analyse:

Ber.: C 50,42 H 5,82 N 7,35 O 19,59 S 16,83

Gef.: C 51,01 H 5,99 N 7,41 S 16,56

##### For-Met-Leu-Phe-{N-[N-(4-Carboxy-3-thiabutylsulfonyl)-S-bis(4-methoxyphenyl)-methylcysteinyl]-2-aminoethyl}amid (15)

Zu einer Lösung von 622 mg For-Met-Leu-Phe (1,1 mmol), 101 mg Triethylamin und 115 mg N-Hydroxysuccinimid (1,0 mmol) in 10 ml wasserfreiem Dimethylformamid werden

0°C 6 h gerührt. Man läßt auf RT erwärmen und nach beendeter Reaktion wird mit verd. HCl versetzt und die Dichlormethan-Phase abgetrennt. Die wäßrige Phase wird mehrmals mit Dichlormethan extrahiert, mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingeengt.

Ausbeute: 58%

Analyse:

Ber.: C 64,22 H 5,40 N 3,00 O 13,69 S 13,72

Gef.: C 64,02 H 5,57 N 3,09 S 13,52

N-{4-Carboxy-3-thiabutylsulfonyl}-S-trityl-cysteinmethylester (19)

Zu einer gerührten Lösung von 920 mg Mercaptoessigsäure (10 mmol) und 1,5 g Triton B-Lösung werden unter Kühlung 4,68 g der Vinylsulfonsäure (10 mmol) zugegeben und 20 h bei RT gerührt. Anschließend wird mit 1 N HCl angesäuert und mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, getrocknet und eingeengt. Der verbleibende Rückstand wird aus MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> umkristallisiert.

Ausbeute: 54%

Analyse:

Bef.: C 57,94 H 5,22 N 2,50 O 17,15 S 17,19

Gef.: C 57,43 H 5,40 N 2,41 S 17,58

N-{4-[HOOC-Leu-His-Phe-Pro-His-Ile-Tyr-Val-Arg-NH-carbonyl]-3-thiabutylsulfonyl}-S-trityl-cysteinmethylester (20)

Zu einer Lösung von 560 mg der Säure 19 (1 mmol), 280 µl Triethylamin und 115 mg N-Hydroxysuccinimid (1,0 mmol) in 10 ml wasserfreiem Dimethylformamid werden unter Rühren bei -10°C 211 mg EDC (1,1 mol) in 5 ml wasserfreiem Dimethylformamid zugetropft und 2 Stunden bei 0°C gerührt. Anschließend wird eine Lösung von 1,18 g H<sub>2</sub>N-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Phe-His-Leu-COOH (1 mmol) in DMF innerhalb von 30 Minuten zugetropft. Es wird zunächst

150 µl Phosphatpuffer pH 8,5, 50 µl einer desoxygenierten wäßrigen Citratlösung (50 mg/ml), 2,5 µl einer desoxygenierten Zinn(II)-chlorid-Lösung (5 mg/ml 0,1 N HCl) und 100 µl einer Pertechmetat-Lösung (400- 1000 µCi) versetzt. Das Reaktionsgemisch wird nach einer Inkubationszeit von 10 min mittels HPLC auf die Reinheit des gebildeten Tc-Komplexes untersucht: LiChrospher RP-18 Säule, 5 µ, 125 x 4,6 mm; Gradientenelution von 100% A nach 100% B innerhalb von 15 min (Eluent A: Acetonitril/Na-phosphat 5 mM, pH 2,0 (10/90); Eluent B: Acetonitril/Na-phosphat 5 mM, pH 2,0 (75/25); 1 ml/min. Die radiochemische Reinheit ist > 95%.

#### 15 Beispiel 6

##### S-Tritylcysteinmethylester (17)

Zu einer Lösung von 1,71 g des Cysteinmethylesters (10 mmol) und Triethylamin (10 mmol) in DMF wird langsam die Lösung von 2,79 g Triphenylchlormethan in DMF zugetropft und 12 Stunden bei RT gerührt. Anschließend wird mit Wasser versetzt, mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung schwach alkalisiert und mit Dichlormethan extrahiert. Die organische Phase wird getrocknet und eingeeengt. Der verbleibende Rückstand wird chromatographiert (Kieselgel, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

Ausbeute: 67%

Analyse:

Ber.:	C 66,73	H 5,84	N 3,38	O 7,73	S 7,75
30 Gef.:	C 66,46	H 5,96	N 3,44		S 7,59

##### N-Vinylsulfonyl-S-trityl-cysteinmethylester (18)

Eine eisgekühlte Lösung von 8,28 g (20 mmol) des S-Trityl Cysteinderivats 17 und 4,89 g Chlorethansulfonylchlorid (30 mmol) in 50 ml Dichlormethan wird langsam unter Eiskühlung mit 20 ml trockenem Pyridin versetzt und bei

versetzt. Das Reaktionsgemisch wird nach einer  
Inkubationszeit von 10 min mittels HPLC auf die Reinheit  
des gebildeten Tc-Komplexes untersucht: LiChrospher RP-18  
Säule, 5  $\mu$ , 125 x 4,6 mm; Gradientenelution von 100% A  
5 nach 100% B innerhalb von 15 min (Eluent A:  
Acetonitril/Na-phosphat 5 mM, pH 2,0 (10/90); Eluent B:  
Acetonitril/Na-phosphat 5 mM, pH 2,0 (75/25);  
1 ml/min. Die radiochemische Reinheit ist > 96%.

10

15

20

25

30

35

weitere 2 Stunden bei 0°C gerührt und 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Produkt wird vom Harnstoff abfiltriert und das Filtrat im Vakuum eingedampft und in Dichlormethan aufgenommen. Nach erneuter Filtration wird  
5 2x mit 0,5 N HCl und gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abgezogen. Der Rückstand wird durch Verreiben mit Diethylether kristallisiert.

Ausbeute: 28%

10 Analyse:

Ber.:	C 59,25	H 6,49	N 13,82	O 14,86	S 5,58
Gef.:	C 59,47	H 6,73	N 13,57		S 5,66

N-(4-[HOOC-Leu-His-Phe-Pro-His-Ile-Tyr-Val-Arg-NH-carbonyl]-3-thiabutylsulfonyl)-cysteinmethylester (21)  
15 1,72 g des Peptids 20 (1 mmol) wird 45 Minuten bei 0°C mit 20 ml wasserfreiem HF in Gegenwart von 5 ml Anisol und 3,5 ml Diethylsulfid behandelt. Nach Abdampfen der Säure wird der verbleibende Rückstand in 5% Essigsäure  
20 aufgenommen, mehrmals mit Diethylether gewaschen und lyophilisiert. Chromatographische Reinigung über Sephadex G-10 mit 0,2 M Essigsäure ergibt 252 mg eines Öls.

Ausbeute: 17%

Analyse:

25 Ber.:	C 53,53	H 6,60	N 16,08	O 17,29	S 6,50
Gef.:	C 53,12	H 6,86	N 15,78		S 6,33

N-(4-[HOOC-Leu-His-Phe-Pro-His-Ile-Tyr-Val-Arg-NH-carbonyl]-3-thiabutylsulfonyl)-cysteinethylester.  
30 Technetium-99m-Komplex  
10 mg der Verbindung 21 werden in 1,0 ml Ethanol gelöst. 50 µl dieser Ligand-Lösung werden mit 100 µl Ethanol, 150 µl Phosphatpuffer pH 8,5, 50 µl einer desoxygenierten wäßrigen Citratlösung (50 mg/ml), 2,5 µl einer  
35 desoxygenierten Zinn(II)-chlorid-Lösung (5 mg/ml 0,1 N HCl) und 100 µl einer Pertechetat-Lösung (400- 1000 µCi)

20 Kohlenstoffatomen substituiert ist und/oder  
gegebenenfalls durch ein oder mehrere Heteroatome  
aus der Reihe O, N, S, P, As, Se unterbrochen  
und/oder substituiert ist oder eine N(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>)-  
5 Gruppe,  
wobei R<sup>a</sup> und R<sup>b</sup> gleich oder verschieden sind  
und/oder ein Wasserstoffatom, einen  
verzweigten oder geradkettigen, zyklischen  
oder polyzyklischen C<sub>1-30</sub>-Alkyl-, Alkenyl-,  
10 Polyalkenyl-, Alkynyl-, Polyalkynyl-, Aryl-,  
Alkylaryl- oder Arylalkylrest darstellen, der  
gegebenenfalls mit Hydroxy-, Oxy-, Oxo-,  
Carboxy-, Aminocarbonyl-, Alkoxycarbonyl-,  
Amino-, Aldehyd- oder Alkoxygruppen mit bis  
15 zu 20 Kohlenstoffatomen substituiert ist  
und/oder gegebenenfalls durch ein oder  
mehrere Heteroatome aus der Reihe O, N, S, P,  
As, Se unterbrochen und/oder substituiert  
ist,  
20 darstellt,  
steht,  
  
R<sup>7</sup> und R<sup>8</sup> gleich oder unterschiedlich sind und  
jeweils für ein Wasserstoffatom und/oder für einen  
25 verzweigten oder unverzweigten C<sub>1-6</sub>-Alkylrest stehen,  
  
R<sup>9</sup> für ein Wasserstoffatom, für einen verzweigten  
oder unverzweigten C<sub>1-6</sub>-Alkylrest oder für eine  
Schwefelschutzgruppe steht,  
30  
B für einen Rest -SR<sup>11</sup>, -NHR<sup>12</sup> oder -OR<sup>13</sup>,  
worin  
  
R<sup>11</sup> für ein Wasserstoffatom, für einen  
35 verzweigten oder unverzweigten C<sub>1-6</sub>-Alkylrest  
oder für eine Schwefelschutzgruppe steht,



## Patentansprüche

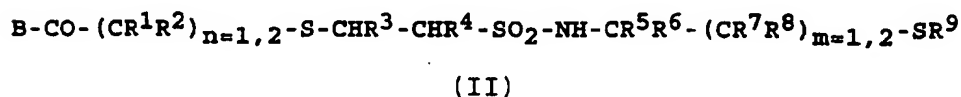
## 1. Verbindungen der allgemeinen Formel (I)

5



worin

10 M für ein Radioisotop von Tc oder Re und L für einen  
Liganden der allgemeinen Formel (II)



15

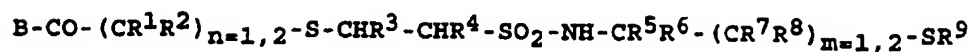
bedeutet, worin

20  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  und  $R^5$  gleich oder unterschiedlich  
sind und jeweils für ein Wasserstoffatom und/oder für  
einen verzweigten oder unverzweigten  $C_{1-6}$ -Alkylrest  
stehen,

25  $R^6$  für ein Wasserstoffatom, für einen verzweigten  
oder unverzweigten  $C_{1-6}$ -Alkylrest oder einen Rest  
-CO- $R^{10}$ ,

worin  
 $R^{10}$  eine Hydroxyl-, eine verzweigte oder  
geradkettige, zyklische oder polyzyklische  $C_{1-30}$ -  
Alkoxy-, Alkenyloxy-, Polyalkenyloxy-,  
30 Alkinyloxy-, Polyalkinyloxy-, Aryloxy-,  
Alkylaryloxy- oder Arylalkyloxygruppe, die  
gegebenenfalls mit Hydroxy-, Oxy-, Oxo-,  
Carboxy-, Aminocarbonyl-, Alkoxycarbonyl-,  
Amino-, Aldehyd- oder Allkoxygruppen mit bis zu

## 6. Liganden der allgemeinen Formel (II)



5

(II)

worin  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$ ,  $R^6$ ,  $R^7$ ,  $R^8$ ,  $R^9$ ,  $n$ ,  $m$  und  $B$  jeweils die in Anspruch 1 angegebene Bedeutung haben.

10 7. Liganden nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß  $n$  und  $m$  jeweils für 1 stehen.

8. Liganden nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß  $R^1$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^7$  und  $R^8$  Wasserstoffatome darstellen.

15

9. Liganden nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß  $R^1$  und  $R^5$  jeweils für Wasserstoffatome stehen.

20 10. Liganden nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß  $B$  für einen Rest  $\text{NHR}^{12}$  oder  $\text{OR}^{13}$ ,

worin

$R^{12}$  und  $R^{13}$  die unter Anspruch 1 angegebene Bedeutung haben,

25

steht.

11. Konjugate, enthaltend eine Verbindung der allgemeinen Formel (I und/oder II) und sich selektiv in erkranktem Gewebe anreichernde Substanzen, wobei  
 30 zwischen diesen eine kovalente Bindung besteht und diese im Falle von Carboxyl- oder Aminogruppen enthaltenden Substanzen wie natürlich vorkommenden oder modifizierten Oligonucleotiden, bei denen der Abbau durch natürlich vorkommende Nukleasen  
 35 verhindert oder erschwert ist, Peptiden, Proteinen,

- 5                   R<sup>12</sup> für ein Wasserstoffatom, eine  
Aminoschutzgruppe oder eine verzweigte oder  
geradkettige, zyklische oder polyzyklische C<sub>1-30</sub>-  
Alkyl-, Alkenyl-, Polyalkenyl, Alkinyl-,  
Polyalkinyl-, Aryl-, Alkylaryl- oder  
Arylalkylgruppe steht, die gegebenenfalls mit  
Hydroxy-, Oxy-, Oxo-, Carboxy-, Aminocarbonyl-,  
Alkoxycarbonyl-, Amino-, Aldehyd- oder  
10                   Alkoxygruppen mit bis zu 20 Kohlenstoffatomen  
substituiert ist und/oder gegebenenfalls durch  
ein oder mehrere Heteroatome aus der Reihe O, N,  
S, P, As, Se unterbrochen und/oder substituiert  
ist,  
15                   R<sup>13</sup> ein Wasserstoffatom oder eine  
Alkoholschutzgruppe bedeutet,  
steht.
- 20           2.   Verbindungen nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet,  
daß n und m jeweils für 1 steht.
3.   Verbindungen nach Anspruch 1 oder 2, dadurch  
gekennzeichnet, daß R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup> und R<sup>8</sup>  
25                   Wasserstoffatome darstellen.
4.   Verbindungen nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet,  
daß R<sup>1</sup> und R<sup>5</sup> für Wasserstoffatome stehen.
- 30           5.   Verbindungen nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet,  
daß B für einen Rest NHR<sup>12</sup> oder OR<sup>13</sup>,  
worin  
                  R<sup>12</sup> und R<sup>13</sup> die unter Anspruch 1 angegebene  
35                   Bedeutung haben,  
steht.

Cys-Ser-Cys-Lys-Asp-Met-Thr-Asp-Lys-Glu-Cys-Leu-Asn-  
5 Phe-Cys-His-Gln-Asp-Val-Ile-Trp,

Ala-Ser-Cys-Ser-Ser-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Cys-Val-Tyr-  
Phe-Ala-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,  
10 Ala-Ser-Ala-Ser-Ser-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Ala-Val-Tyr-  
Phe-Ala-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Cys-Ser-Cys-Ser-Ser-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Cys-Val-Tyr-  
15 Phe-Cys-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Cys-Thr-Cys-Phe-Thr-Tyr-Lys-Asp-Lys-Glu-Ala-Val-Tyr-  
Phe-Ala-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

20 Cys-Val-Tyr-Phe-Cys-His-Gln-Asp-Val-Ile-Trp,

N-Acetyl-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Ala-Val-Tyr-Phe-Ala-His-  
Gln-Asp-Val-Ile-Trp,  
25 Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu,

Ac-Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu,

30 Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe,

Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe,

Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu,

35 Sar-Arg-Val-Tyr-Val-His-Pro-Ala,

Antikörpern oder deren Fragmente amidisch oder im  
Falle von Hydroxylgruppen enthaltenden Substanzen wie  
Fettalkoholen esterartig oder im Falle von  
Aldehydgruppen enthaltenden Substanzen imidisch  
5 vorliegt.

12. Konjugate nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet,  
daß die sich in erkranktem Gewebe anreichernden  
Substanzen Peptide wie Endotheline, Teilsequenzen von  
10 Endothelinen, Endothelin-Analoga, Endothelin-  
Derivate, Endothelin-Antagonisten oder Angiotensine,  
Teilsequenzen von Angiotensinen, Angiotensin-Analoga,  
Angiotensin-Derivate und Angiotensin-Antagonisten  
sowie chemotaktische Peptide bedeuten.

15

13. Konjugate nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet,  
daß die Peptide die folgenden Sequenzen oder Teile  
davon

20 Cys-Ser-Cys-Ser-Ser-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Cys-Val-Tyr  
└─┐  
Phe-Cys-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

25 Cys-Ser-Cys-Ser-Ser-Trp-Leu-Asp-Lys-Glu-Cys-Val-Tyr-  
└─┐  
Phe-Cys-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

30 Cys-Thr-Cys-Phe-Thr-Tyr-Lys-Asp-Lys-Glu-Cys-Val-Tyr-  
└─┐  
Phe-Cys-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

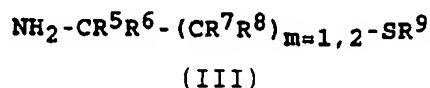
35 Cys-Ser-Ala-Ser-Ser-Leu-Met-Asp-Lys-Glu-Ala-Val-Tyr-  
└─┐  
Phe-Cys-His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

worin  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$ ,  $R^6$ ,  $R^7$ ,  $R^8$ ,  $R^9$ ,  $n$ ,  $m$  und  $B$  die in Anspruch 1 angegebene Bedeutung haben,

umsetzt.

5

15. Verfahren zur Herstellung von Liganden der allgemeinen Formel (II), dadurch gekennzeichnet, daß man 2-Chlorethan-sulfonsäurechlorid in an sich bekannter Weise in einem protischen oder aprotischen Lösungsmittel unter Zusatz einer geeigneten Base mit Verbindungen der allgemeinen Formel (III)
- 10

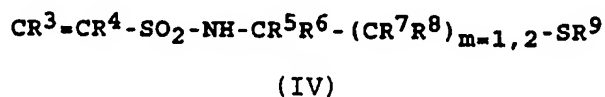


15

worin  $R^5$ ,  $R^6$ ,  $R^7$ ,  $R^8$ ,  $R^9$  und  $m$  die in Anspruch 1 angegebene Bedeutung haben,

20

bei Temperaturen von  $-20^\circ$  bis  $180^\circ\text{C}$  zu Verbindungen der allgemeinen Formel (IV)



25

worin  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$ ,  $R^6$ ,  $R^7$ ,  $R^8$ ,  $R^9$  und  $m$  die in Anspruch 1 angegebene Bedeutung haben,

umsetzt

30

und diese Verbindungen der allgemeinen Formel (IV) gegebenenfalls unter Zusatz einer geeigneten Hilfsbase bei Temperaturen von  $-20^\circ$  bis  $180^\circ\text{C}$  in an sich bekannter Weise mit Verbindungen der allgemeinen Formel (V)

For-Met-Leu-Phe,

For-Met-Leu-Phe-Lys,

5

die Teilsequenzen

His-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

10

D-Trp-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Phe-D-Trp-Leu-Asp-Ile-Ile-Trp,

Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe,

15

Val-Tyr-Ile-His-Pro,

oder die cyclischen Aminosäuresequenzen

20

Cyclo-(DTrp-DAsp-Pro-DVal-Leu),

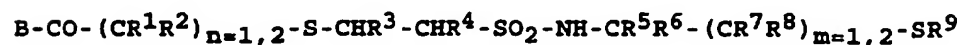
Cyclo-(DGlu-Ala-alloDile-Leu-DTrp).

aufweisen.

25

14. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der allgemeinen Formel (I), dadurch gekennzeichnet, daß man Technetium-99m oder Re in Form von Pertechnetat oder Perrhenat in Gegenwart eines Reduktionsmittels und gegebenenfalls eines Hilfsliganden mit einer Verbindung der allgemeinen Formel (II)

30



(II)

35

einer Pertechnetat- oder Perrhenatlösung zubereitet wird.

18. Verfahren zur radiodiagnostischen Untersuchung,  
5 gekennzeichnet dadurch, daß eine radiopharmazeutische  
Zusammensetzung nach Anspruch 17 in einer Menge von  
0,1 bis 30 mCi, bevorzugt von 0,5 bis 10 mCi pro 70  
kg Körpergewicht einem Patienten verabreicht und die  
10 vom Patienten abgegebene Strahlung aufgezeichnet  
wird.

15

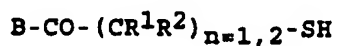
20

25

30

35





(V)

- 5                   worin  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $n$  und  $B$  die in Anspruch 1  
angegebene Bedeutung haben,
- umsetzt,
- 10                   und gegebenenfalls vorhandene Schutzgruppen in an  
sich bekannter Weise abspaltet.
- 15                   16. Kit zur Herstellung von Radiopharmaka, bestehend aus  
einer Verbindung der allgemeinen Formel (II) gemäß  
einem der Ansprüche 6 bis 10 oder einem Konjugat  
gemäß einem der Ansprüche 11 bis 13 sowie einem  
Reduktionsmittel und gegebenenfalls einem  
Hilfsliganden, die in trockenem Zustand oder in  
20                   Lösung vorliegen, sowie einer Gebrauchsanleitung mit  
einer Reaktionsvorschrift zur Umsetzung der  
beschriebenen Verbindungen mit Technetium-99m oder Re  
in Form einer Pertechnetatlösung oder  
Perrhenatlösung.
- 25                   17. Radiopharmazeutische Zusammensetzung zur nicht  
invasiven in vivo Darstellung von Organen, Rezeptoren  
und rezeptorhaltigem Gewebe und/oder von  
atherosklerotischen Plaques, dadurch gekennzeichnet,  
30                   daß sie eine Verbindung nach einem der Ansprüche 1  
bis 5 oder ein Konjugat gemäß der Ansprüche 11 bis 13  
sowie gegebenenfalls mit den in der Galenik üblichen  
Zusätzen enthält, wobei die Verbindung in einem Kit  
nach Anspruch 16 mit Technetium-99m oder Re in Form



**PCT**  
WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM  
Internationales Büro  
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

<p>(51) Internationale Patentklassifikation <sup>6</sup> : <b>A61K 51/08, 51/04</b></p>	<p><b>A3</b></p>	<p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: <b>WO 97/10852</b></p> <p>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 27. März 1997 (27.03.97)</p>
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE96/01821</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 19. September 1996 (19.09.96)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: 195 36 781.2      21. September 1995 (21.09.95)    DE</p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): INSTI- TUT FÜR DIAGNOSTIKFORSCHUNG GMBH AN DER FREIEN UNIVERSITÄT BERLIN [DE/DE]; Spandauer Damm 130, D-14050 Berlin (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und</p> <p>(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): DINKELBORG, Ludger [DE/DE]; Emdenzeile 5, D-13585 Berlin (DE). HILGER, Christoph, Stephan [DE/DE]; Ostenderstrasse 3a, D-13353 Berlin (DE). KRAMP, Wolfgang [DE/DE]; Damwildsteig 41a, D-13503 Berlin (DE). PLATZEK, Johannes [DE/DE]; Grottkauer Strasse 55, D-12621 Berlin (DE). RADÜCHEL, Bernd [DE/DE]; Gollantzstrasse 132, D-13465 Berlin (DE). ERBER, Sebastian [DE/DE]; Lindenstrasse 82, D-84030 Ergolding (DE).</p> <p>(74) Anwalt: WABLAT, Wolfgang; Potsdamer Chaussee 48, D- 14129 Berlin (DE).</p>	<p>(81) Bestimmungsstaaten: AU, CA, HU, JP, KR, NO, NZ, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p><b>Veröffentlicht</b> <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i></p> <p>(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchen- berichts: 28. August 1997 (28.08.97)</p>	
<p>(54) Title: XSNS-TYPE BI-FUNCTIONAL SULPHIDE-CONTAINING SULPHONAMIDE CHELATING AGENTS FOR RADIOAC- TIVE ISOTOPES</p> <p>(54) Bezeichnung: BIFUNKTIONELLE SULFIDHALTIGE SULFONAMID-CHELATBILDNER VOM TYP XSNS FÜR RADIOAK- TIVE ISOTOPE</p> <p>(57) Abstract</p> <p>The invention pertains to novel compounds of the general formula (I): M - L in which M stands for a radioisotope of Tc or Re, L stands for a ligand of the general formula (II): B-CO-(CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>)<sub>m=1,2</sub>-S-CHR<sup>3</sup>-CHR<sup>4</sup>-SO<sub>2</sub>-NH-CR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>-(CR<sup>7</sup>R<sup>8</sup>)<sub>m=1,2</sub>-SR<sup>9</sup> in which R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, R<sup>8</sup> and R<sup>9</sup> can have different meanings, and B stands for another group which is suitable both for the dative bond of metal ions and for coupling with selectively concentrating compounds. That coupling can alternatively be effected on R<sup>8</sup>. These novel compounds serve to form complexes of technetium and rhenium and are used in medical diagnostics and therapy.</p> <p>(57) Zusammenfassung</p> <p>Die Erfindung betrifft neue Verbindungen der allgemeinen Formel (I) M - L, worin M für ein Radioisotop von Tc oder Re und L für einen Liganden der allgemeinen Formel (II) B-CO-(CR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>)<sub>m=1,2</sub>-S-CHR<sup>3</sup>-CHR<sup>4</sup>-SO<sub>2</sub>-NH-CR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>-(CR<sup>7</sup>R<sup>8</sup>)<sub>m=1,2</sub>-SR<sup>9</sup> steht, worin R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, R<sup>8</sup>, R<sup>9</sup> unterschiedliche Bedeutung haben können und B für eine weitere Gruppe steht, die einerseits für die koordinative Bindung von Metallionen, andererseits für die Kopplung an sich selektiv anreichernde Verbindungen geeignet ist. Die Kopplung an sich selektiv anreichernde Verbindungen kann alternativ auch über R<sup>8</sup> erfolgen. Die neuen Verbindungen dienen zur Komplexierung von Technetium und Rhenium und werden in der medizinischen Diagnostik und Therapie eingesetzt.</p>		

# **LEDIGLICH ZUR INFORMATION**

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AM	Armenien	GB	Vereinigtes Königreich	MX	Mexiko
AT	Österreich	GE	Georgien	NE	Niger
AU	Australien	GN	Guinea	NL	Niederlande
BB	Barbados	GR	Griechenland	NO	Norwegen
BE	Belgien	HU	Ungarn	NZ	Neuseeland
BF	Burkina Faso	IE	Irland	PL	Polen
BG	Bulgarien	IT	Italien	PT	Portugal
BJ	Benin	JP	Japan	RO	Rumänien
BR	Brasilien	KE	Kenya	RU	Russische Föderation
BY	Belarus	KG	Kirgisistan	SD	Sudan
CA	Kanada	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KR	Republik Korea	SG	Singapur
CG	Kongo	KZ	Kasachstan	SI	Slowenien
CH	Schweiz	LI	Liechtenstein	SK	Slowakei
CI	Côte d'Ivoire	LK	Sri Lanka	SN	Senegal
CM	Kamerun	LR	Liberia	SZ	Swasiland
CN	China	LK	Litauen	TD	Tschad
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TG	Togo
CZ	Tschechische Republik	LV	Lettland	TJ	Tadschikistan
DE	Deutschland	MC	Monaco	TT	Trinidad und Tobago
DK	Dänemark	MD	Republik Moldau	UA	Ukraine
EE	Estland	MG	Madagaskar	UG	Uganda
ES	Spanien	ML	Mali	US	Vereinigte Staaten von Amerika
FI	Finnland	MN	Mongolei	UZ	Usbekistan
FR	Frankreich	MR	Mauretanien	VN	Vietnam
GA	Gabon	MW	Malawi		

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/DE 96/01821

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 6 A61K51/08 A61K51/04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 6 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 94 22493 A (DIAGNOSTIKFORSCHUNG INST ;HILGER CHRISTOPH STEPHAN (DE); DINKELBOR) 13 October 1994 see examples ---	1-18
Y	WO 95 05398 A (NEORX CORP) 23 February 1995 see examples ---	1-18
Y	WO 95 03280 A (RESOLUTION PHARMACEUTICALS INC) 2 February 1995 see examples --- -/-	1-18

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents:

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \*&\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

4 July 1997

Date of mailing of the international search report

21.07.97

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2240 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Dullaart, A

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/DE 96/01821

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>NUCL MED BIOL, FEB 1995, VOL. 22, NO. 2,  PAGES 165-73, XP002034516  ANDERSON CJ ET AL:  "N,N'-ethylene-di-L-cysteine (EC)  complexes of Ga(III) and In(III):  molecular modeling, thermodynamic  stability and in vivo studies."  see the whole document</p> <p>---</p>	1-18
Y	<p>BIOCONJUGATE CHEMISTRY,  vol. 1, no. 2, 1 January 1990,  pages 132-137, XP000371813  KWAMENA E BAIDOO ET AL: "SYNTHESIS OF A  DIAMINEDITHIOL BIFUNCTIONAL CHELATING  AGENT FOR INCORPORATION OF TECHNETIUM-99M  INTO BIOMOLECULES"  see chapter I  see schemas</p> <p>-----</p>	1-18

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/DE 96/01821

**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
**Observation: although claim 18 refers to a method for treatment of the human/animal body, the search was carried out and based on the cited effects of the compound/composition.**
2. ☒ Claims Nos.: 1-18  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:  
**Owing to the large number of compounds covered by the wording of the claims, the search was based on the fundamental concept of the application and the examples given in the description.**
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

**Remark on Protest**

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.  
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Inter. Application No

PCT/DE 96/01821

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9422493 A	13-10-94	DE 4310999 A	06-10-94
		AU 6501894 A	24-10-94
		CA 2156619 A	13-10-94
		EP 0692981 A	24-01-96
		HU 73489 A	28-08-96
		JP 8511237 T	26-11-96
		NO 953868 A	23-11-95
		NZ 263795 A	29-01-97
-----			
WO 9505398 A	23-02-95	CA 2165538 A	23-02-95
		EP 0724601 A	07-08-96
-----			
WO 9503280 A	02-02-95	AU 7261994 A	20-02-95
		CA 2167167 A	02-02-95
		EP 0710228 A	08-05-96
		JP 9500140 T	07-01-97
-----			

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Intern. Sales Aktenzeichen

PCT/DE 96/01821

**A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES**  
 IPK 6 A61K51/08 A61K51/04

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

**B. RECHERCHIERTE GEBIETE**

Recherchierte Mindestprüfung (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)  
 IPK 6 A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfung gebörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

**C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN**

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	WO 94 22493 A (DIAGNOSTIKFORSCHUNG INST ;HILGER CHRISTOPH STEPHAN (DE); DINKELBOR) 13.Oktober 1994 siehe Beispiele	1-18
Y	WO 95 05398 A (NEORX CORP) 23.Februar 1995 siehe Beispiele	1-18
Y	WO 95 03280 A (RESOLUTION PHARMACEUTICALS INC) 2.Februar 1995 siehe Beispiele	1-18

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie angeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

4.Juli 1997

Abenddatum des internationalen Recherchenberichts

21.07.97

Name und Postanschrift der Internationale Recherchenbehörde  
 Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
 NL - 2280 HV Rijswijk  
 Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
 Fax (+ 31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Dullaart, A



# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Inter. Journal des Aktenzeichen

PCT/DE 96/01821

C(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	<p>NUCL MED BIOL, FEB 1995, VOL. 22, NO. 2, PAGES 165-73, XP002034516 ANDERSON CJ ET AL: "N,N'-ethylene-di-L-cysteine (EC) complexes of Ga(III) and In(III): molecular modeling, thermodynamic stability and in vivo studies." siehe das ganze Dokument</p> <p>---</p>	1-18
Y	<p>BIOCONJUGATE CHEMISTRY, Bd. 1, Nr. 2, 1. Januar 1990, Seiten 132-137, XP000371813 KWAMENA E BAIDOO ET AL: "SYNTHESIS OF A DIAMINEDITHIOL BIFUNCTIONAL CHELATING AGENT FOR INCORPORATION OF TECHNETIUM-99M INTO BIOMOLECULES" siehe Chart I siehe Schemes</p> <p>-----</p>	1-18

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 96/01821

## Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 1 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☒ Ansprüche Nr.   
 weil Sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich   
 **Bemerkung: Obwohl der(die) Anspruch(üche) 18 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers bezieht(en), wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.**
2. ☒ Ansprüche Nr. **1-18**   
 weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich   
 **Wegen der großen Zahl der durch den Anspruchswortlaut definierten Verbindungen wurde die Recherche für den Grundgedanken der Anmeldung und die in der Beschreibung erwähnten Beispiele durchgeführt.**
3. ☐ Ansprüche Nr.   
 weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

## Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche der internationalen Anmeldung.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchengebühr gerechtfertigt hätte, hat die Internationale Recherchenbehörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche der internationalen Anmeldung, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen enthalten:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- ☐ Die Zahlung zusätzlicher Gebühren erfolgte ohne Widerspruch.

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Inter. Anales Aktenzeichen

PCT/DE 96/01821

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9422493 A	13-10-94	DE 4310999 A	06-10-94
		AU 6501894 A	24-10-94
		CA 2156619 A	13-10-94
		EP 0692981 A	24-01-96
		HU 73489 A	28-08-96
		JP 8511237 T	26-11-96
		NO 953868 A	23-11-95
		NZ 263795 A	29-01-97
-----			
WO 9505398 A	23-02-95	CA 2165538 A	23-02-95
		EP 0724601 A	07-08-96
-----			
WO 9503280 A	02-02-95	AU 7261994 A	20-02-95
		CA 2167167 A	02-02-95
		EP 0710228 A	08-05-96
		JP 9500140 T	07-01-97
-----			